

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

INFLUENCIA DE LA INHIBICIÓN SELECTIVA DE LA
CICLO-OXIGENASA 2 EN LA PREVENCIÓN DE TUMORES
COLORRECTALES FARMACOLÓGICAMENTE
INDUCIDOS

ÁNGEL PLAZA MARTÍNEZ

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2006

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a Valencia el día 4 de Novembre de 2005 davant un tribunal format per:

- D. Adolfo Benages Martínez
- D^a. Teresa Soria Cogollos
- D. Eduardo García-Granero Ximénez
- D. Antonio F. Compañ Rosique
- D. Alejandro Espí Macías

Va ser dirigida per:

D. Carlos Carbonell Cantí

D. José Francisco Noguera Aguilar

©Copyright: Servei de Publicacions
Ángel Plaza Martínez

Depòsit legal:

I.S.B.N.:84-370-6472-4

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Artes Gráficas, 13 bajo

46010 València

Spain

Telèfon: 963864115

TESIS DOCTORAL

INFLUENCIA DE LA INHIBICIÓN SELECTIVA DE
LA CICLO-OXIGENASA 2 EN LA PREVENCIÓN
DE TUMORES COLORRECTALES
FARMACOLÓGICAMENTE INDUCIDOS

Presentada por:

Ángel Plaza Martínez.

Dirigida por:

Prof. Dr. D. Carlos Carbonell Cantí.

Dr. D. José Francisco Noguera Aguilar.

A Cristina, mi esposa, por apoyarme incondicionalmente.

A Cristina y Ángel, mis hijos, lo mejor que me ha pasado nunca.

A mis padres y hermana, y a toda mi familia, por su constante confianza y aliento.

Agradecimientos

A D. Carlos Carbonell Cantí, Doctor en Medicina y Cirugía, miembro del Servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital Clínico Universitario de Valencia, Profesor Titular de Cirugía Cardiovascular en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Por dirigir el presente trabajo e iniciarme en el mundo de la cirugía y más concretamente en el de la Cirugía Vascular.

A D. José Francisco Noguera Aguilar, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe de Unidad de Cirugía General y Digestiva del Hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca. Por codirigir el presente trabajo, aportando ideas teóricas y prácticas y resolviendo problemas cotidianos en la investigación diaria, así como por su colaboración en mi formación quirúrgica en cirugía clínica y experimental.

A D. Bruno Camps Vilata, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe de Sección de Cirugía General y Digestiva del Hospital Clínico Universitario de Valencia, Profesor Titular de Cirugía General en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Por su tutoría durante los años de doctorado, contribuyendo a mi formación investigadora.

A D. José Miguel Morón Canis, Licenciado en Medicina y Cirugía, miembro del Servicio de Cirugía General y Digestiva del Hospital Universitario Son Dureta de Palma de Mallorca. Por su estrecha colaboración en mi formación quirúrgica en cirugía clínica, así como por su colaboración en la investigación diaria.

A D^a. Isabel Amengual Antich, Licenciada en Medicina y Cirugía, miembro del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Manacor. Por el minucioso estudio histológico realizado.

A D^a. Susana Esteban Valdés, Profesora Titular de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud de la Facultad de Biología de la Universidad de las Islas Baleares, Coordinadora del Estabulario de la Universidad de las Islas Baleares. Por el perfecto mantenimiento de unas idóneas condiciones ambientales para el desarrollo de la experimentación animal.

A todos mis compañeros de los Servicios de Angiología y Cirugía Vascular del Hospital Universitario Son Dureta de Palma de Mallorca (encabezados por el Dr. Francisco Tadeo Gómez Ruiz) y del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia (dirigidos por el Dr. Eduardo

Ortiz Monzón). Por su paciencia, su formación en cirugía clínica, su aliento para completar el presente trabajo y las correcciones estilísticas y de presentación realizadas al mismo.

A D. Jaime Eduardo Poquet Jornet, Doctor en Farmacia, Jefe del Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital ASEPEYO de Sant Cugat del Vallés en Barcelona. Por la exhaustiva revisión bibliográfica, el aporte de artículos completos y las oportunas correcciones realizadas a este trabajo.

A mis padres, que siempre me han apoyado y sin los cuales nada habría conseguido. Que los logros que vaya consiguiendo en la vida puedan recompensarles y les hagan sentirse orgullosos de su hijo.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	8
2.- MOTIVOS Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	11
2.1.- <i>Importancia socio-sanitaria y socio-económica del cáncer colorrectal</i>	12
2.2.- <i>Historia natural de la enfermedad</i>	14
2.3.- <i>Estadíaje tumoral</i>	19
2.4.- <i>Estrategias actuales en el tratamiento de los tumores colorrectales</i>	21
2.4.1.- <i>Tratamiento de los adenomas colorrectales</i>	21
2.4.2.- <i>Tratamiento del cáncer colorrectal</i>	22
2.5.- <i>Resultados actuales del tratamiento del cáncer colorrectal</i>	29
2.6.- <i>Soluciones a estos resultados</i>	30
2.6.1.- <i>Nuevas pautas de tratamiento</i>	30
2.6.2.- <i>Pautas preventivas</i>	31
3.- FUNDAMENTOS	39
3.1.- <i>Quimioprevención de los tumores colorrectales con AINE y coxibs</i>	40
3.1.1.- <i>Ciclo-oxigenasas 1 y 2</i>	40
3.1.2.- <i>Sobre-expresión de la COX-2 en los tumores colorrectales</i>	42
3.1.3.- <i>Fármacos inhibidores de la COX – coxibs</i>	42
3.1.4.- <i>Rofecoxib</i>	44
3.2.- <i>Pruebas de la relación entre AINE, coxibs y tumores colorrectales</i>	47
3.2.1.- <i>Estudios en modelos animales</i>	48
3.2.2.- <i>Estudios epidemiológicos</i>	49
3.2.3.- <i>Ensayos clínicos</i>	52
3.3.- <i>Mecanismos para la prevención de los tumores colorrectales</i>	53
3.3.1.- <i>Mecanismos dependientes de la inhibición de la COX-2</i>	53
3.3.2.- <i>Mecanismos independientes de la inhibición de la COX-2</i>	54
4.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	57
4.1.- <i>Hipótesis</i>	58
4.2.- <i>Objetivos</i>	58

5.- MATERIAL Y MÉTODOS	60
5.1.- Material	61
5.1.1.- Animales de experimentación	61
5.1.2.- Condiciones dietéticas y ambientales	61
5.1.3.- Fármacos empleados	61
5.1.4.- Anticuerpos utilizados	62
5.2.- Métodos	63
5.2.1.- Estimación del tamaño muestral	63
5.2.2.- Diseño del estudio	63
5.2.3.- Incorporación al estudio	64
5.2.4.- Manipulación experimental	65
5.2.5.- Seguimiento	65
5.2.6.- Sacrificio	66
5.2.7.- Medición de la proliferación neoplásica	68
5.2.8.- Estudio histológico	71
5.2.9.- Estudio inmunohistoquímico	73
5.2.10.- Recogida de datos y análisis estadístico	75
	76
6.- RESULTADOS	
6.1.- Resultados “clínicos”	77
6.1.1.- Incrementos de peso y curvas de crecimiento	77
6.1.2.- Dosis de carcinógeno administradas	78
6.1.3.- Alteraciones del tránsito cólico	79
6.1.4.- Complicaciones del lugar de punción	79
6.1.5.- Mortalidad	79
6.2.- Resultados macroscópicos	80
6.3.- Resultados microscópicos	80
6.3.1.- Número de tumores	81
6.3.2.- Superficie tumoral microscópica	82
6.3.3.- Porcentaje de superficie tumoral microscópico	83
6.3.4.- Estudio histológico	85
6.3.5.- Estudio inmunohistoquímico de la actividad COX-2	87

7.- DISCUSIÓN	90
8.- CONCLUSIONES	109
9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
10.- APÉNDICES	145
10.1.- Pies de figuras y tablas	146
10.2.- Tablas	152
10.3.- Abreviaturas	175
10.4.- Artículos publicados por el grupo investigador	178

Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más frecuentes que afectan al ser humano, es la tercera en frecuencia y mortalidad y su tratamiento supone un importante coste socioeconómico. Además, hasta un 50% de los pacientes intervenidos de resección cólica por neoplasia van a presentar una recidiva tumoral habitualmente en la zona intervenida. Disponer de un tratamiento que pudiera prevenir la aparición del cáncer o evitar la recidiva del cáncer ya tratado supondría un gran avance en la prevención y curación de esta patología. Existen muchos estudios a nivel mundial que versan sobre la prevención de estos tumores con diversos fármacos y regímenes dietéticos. De entre los primeros cabe destacar los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE) y más recientemente los inhibidores selectivos de la ciclo-oxigenasa 2 (COX-2), que parecen tener una mayor actividad anti-inflamatoria y anti-tumoral.

Con el presente trabajo se pretende investigar el efecto de la inhibición selectiva de la COX-2 en la disminución de la incidencia de tumores cólicos a nivel experimental y valorar si este efecto es mayor que el conseguido con la inhibición no selectiva de la COX.

Para ello, se ha diseñado un estudio sobre un modelo animal constituido por 35 ratas Sprague-Dawley macho de 225 gramos de peso medio (intervalo de 155 a 400 g), asignadas aleatoriamente a uno de los cuatro grupos siguientes: un grupo control (n=5) sin manipulación experimental, un grupo de carcinogénesis farmacológica (n=10) con inducción y promoción cancerígena cólica con 1,2-dimetilhidrazina dihidrocloruro (1,2-DMH) (Grupo DMH), un grupo de carcinogénesis e inhibición no selectiva de la COX (n=10) (Grupo DMH + AAS) con administración de ácido acetil-salicílico (AAS) al tiempo de la carcinogénesis farmacológica, y un grupo de carcinogénesis e inhibición selectiva de la COX-2 (n=10) (Grupo DMH + RFC), con administración de rofecoxib (RFC) junto a la carcinogénesis farmacológica. La inducción carcinogénica se realizó con 1,2-DMH a dosis semanal de 25 mg / Kg de peso durante 18 semanas y se analizaron los tumores cólicos inducidos en la semana 20 del inicio de la manipulación experimental, con estudios macroscópicos y

microscópicos. Los antiinflamatorios se administraron por vía oral a razón de AAS 30 mg / Kg de peso del animal / día y rofecoxib 3 mg / Kg / día.

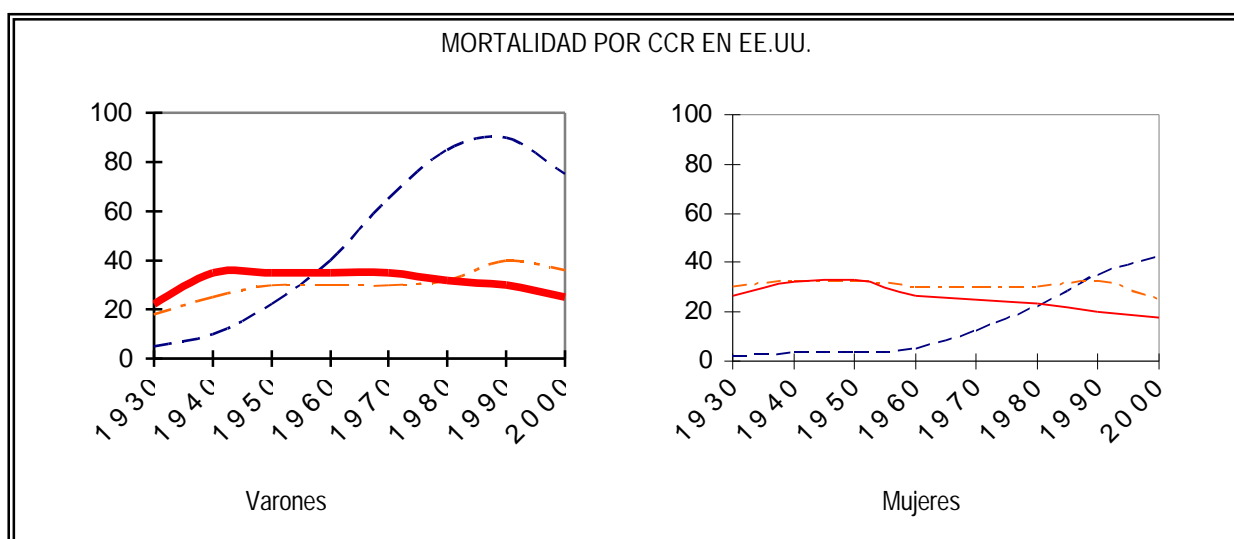
Se valoraron los resultados clínicos, así como parámetros macroscópicos y microscópicos de los tumores inducidos, en relación al número de tumores, superficie tumoral y porcentaje de superficie tumoral en los tres grupos con manipulación experimental. Del mismo modo se midió la expresión de la actividad COX-2 mediante técnicas de inmunohistoquímica, para estudiar la asociación entre reducción de la cantidad de tumor y la expresión COX-2 en tejido normal y en tejido tumoral.

Motivos y justificación del estudio

2.1. IMPORTANCIA SOCIO-SANITARIA Y SOCIO-ECONÓMICA DEL CÁNCER COLORRECTAL

El CCR es la tercera neoplasia más incidente (tras las de próstata y pulmón en el varón y las de mama y pulmón en la mujer) y la tercera en mortalidad (figura 1) en Estados Unidos, supone el 15% de todos los cánceres y más del 50% de los cánceres digestivos. En el año 2004, presentó una incidencia y una mortalidad de unos 147.000 nuevos casos y alrededor de 57.000 fallecimientos respectivamente en Estados Unidos, según datos de la *American Cancer Society* (*American Cancer Society, 2004*). En España, posee una incidencia de 20 a 30 casos por cada 100.000 habitantes y año, siendo responsable del 20% de las muertes por procesos malignos (*Noguera, 2002-A*).

Figura 1: Evolución de la mortalidad producida por el CCR en las últimas décadas en varones y mujeres.



Se estima que el riesgo individual de sufrir un cáncer de colon a lo largo de la vida es de un 6%, el 90% de ellos aparecen en pacientes con edad superior a 50 años y hasta el 75% por encima de los 70 años (*American Cancer Society, 2004*).

La tasa de supervivencia actual es de aproximadamente un 60% a los cinco años (*Noguera, 2002-A; Piqué, 1992*), y ésta depende fundamentalmente del estadiaje tumoral en el momento del tratamiento (*Piqué, 1992*).

La recidiva del tumor previamente tratado se produce entre el 30 y el 50% de los casos tratados inicialmente con intención curativa, con un porcentaje de resecabilidad en torno al 30-40% de las recidivas globales (*García, 1996*). Las recidivas pueden ser locales (en la línea anastomótica cólica), locorregionales (que se inician en la línea anastomótica pero que se extienden a la zona perianastomótica y a los tejidos y órganos adyacentes) o a distancia (metástasis). Los factores asociados con un mayor riesgo de recidivas tumorales, y por tanto con un peor pronóstico tras la resección tumoral, son la presencia de invasión vascular, la infiltración tumoral de la subserosa, la presencia y número de metástasis ganglionares y la ausencia de infiltración tumoral linfoplasmocitaria (*Vega, 1996; Tobaruela, 1996*).

En cuanto a la importancia socio-económica, habría que destacar que la mayor parte de los estudios que se refieren a costes producidos por el CCR están realizados en Estados Unidos y Canadá y fundamentalmente se refieren a costes directos, es decir aquellos producidos por el consumo de recursos hospitalarios (coste de los tratamientos quirúrgico, quimioterápico o radioterápico, estancias hospitalarias,...). Se considera que en Canadá, el tratamiento del CCR supone el 4% de los recursos económicos destinados al tratamiento de los siete problemas crónicos de salud más importantes (por orden decreciente de gasto: coronariopatía, ictus, hipertensión arterial, CCR, cáncer de mama, diabetes mellitus y osteoporosis) y esto supone unos 332 millones de dólares anuales (*O'Brien, 2001; Seifeldin, 1999*). El único trabajo encontrado que analiza los costes directos e indirectos (los producidos por incapacidad laboral, pérdida de productividad laboral o pérdida de años de vida en edad laboral) estudia los costes del tratamiento del CCR en Francia, con un sistema sanitario más parecido al nuestro, y se refieren al año 1999 (*Selke, 2003*). En este trabajo se llega a la conclusión de que los costes directos del diagnóstico, prevención y tratamiento del

CCR supusieron un total de 470 millones de €, si se añaden los costes indirectos derivados de las bajas laborales y las pensiones de invalidez el total ascendió a 555 millones, y si se añaden los costes indirectos por pérdida de capacidad productiva los costes totales sumaron 997 millones de € en 1999.

2.2. HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

La mayoría de los CCR asientan sobre adenomas o pólipos adenomatosos pre-existentes. La incidencia de estas lesiones es desconocida por la ausencia de sintomatología asociada a las mismas, pero en necropsias se ha establecido una prevalencia de hasta un 35% de la población general. Los adenomas se clasifican histológicamente en adenomas tubulares, vellosos o túbulo-vellosos. Su potencial de malignización depende de tres factores: su histología (el mayor potencial lo poseen los adenomas vellosos), el diámetro del adenoma (mayor potencial de malignización si el diámetro supera un cm) y del grado de displasia del epitelio del adenoma (a mayor displasia, mayor potencial de malignización). Se considera que un 5% de los adenomas se transformarán en un CCR en un proceso que dura entre 5 y 10 años (*Migdley, 1999*).

En el desarrollo de un CCR intervienen factores genéticos predisponentes y factores ambientales como una dieta pobre en verduras, fibra o folatos y rica en grasas, carnes rojas y alcohol, llevar una vida sedentaria y el consumo de tabaco. Cada vez se conocen mejor los factores genéticos predisponentes, de modo que en la actualidad se conocen dos síndromes familiares: la Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF) y el CCR Hereditario No Polipósico (CCR-HNP). El resto de casos se consideran esporádicos.

Los CCR esporádicos son los más frecuentes. Ocurren en la vejez, lo que apoya la teoría descrita por Vogelstein (*Vogelstein, 1988*), según la cual la formación de un CCR esporádico

sería la transformación de una mucosa normal en un adenoma y de éste en un CCR (figura 2), y precisa de una serie de pasos para que ocurran los cambios genéticos en la progresión del tumor. Así, se necesitaría tiempo para acumular una combinación de cuatro o cinco defectos genéticos, incluyendo la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores. En la tabla I se puede observar los cambios genéticos más frecuentes en los CCR esporádicos y que se producen en el tumor. Como se puede apreciar en la tabla I, existen oncogenes (que favorecen el desarrollo del tumor), genes supresores del tumor (cuyo defecto produce la formación y progresión del tumor), genes metastásicos (que favorecen la aparición y crecimiento de metástasis a distancia) y genes que producen hipometilación (que favorecen la activación de oncogenes). Además estas mutaciones pueden actuar en una fase inicial (transformación de mucosa normal en adenoma), en una fase intermedia (crecimiento del adenoma) o en una fase tardía (transformación de adenoma en CCR y capacidad de metastatizar). Si alguno de estos defectos están presentes en el momento del nacimiento, se requiere un menor número de mutaciones para completar la transformación de mucosa normal en adenoma y de adenoma en CCR, de modo que la enfermedad aparece antes de la vejez (*Migdley, 1999*). Así se produciría la transformación de un epitelio normal en un foco aberrante de una cripta del colon, luego en un adenoma y éste en un carcinoma, inicialmente in situ y luego invasor, con posteriores metástasis a distancia. Sin embargo, existen ocasiones en que la secuencia adenoma-carcinoma no se puede demostrar o no parece estar presente, pasando directamente desde una displasia en la cripta a un carcinoma invasor (*Takayama, 1998; Reddy, 2000-A*).

Figura 2: Secuencia de transformación de epitelio normal en carcinoma invasor.

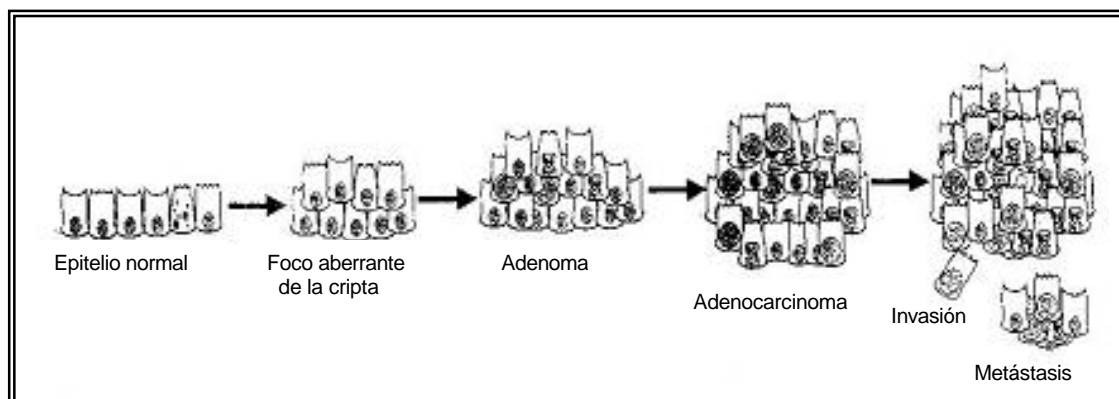


Tabla I: Mutaciones más frecuentemente observadas en los CCR esporádicos.

CATEGORÍA	GEN	CROMOSOMA	FRECUENCIA	FUNCIÓN	PASO
Oncogenes	K-ras	12	40%	Proliferación celular	Intermedio
	MYC	--	5%	Proliferación celular	Desconocido
Supresores	APC	5	> 60%	Disminución adhesión	Precoz
	MCC	5	60%	Desconocida	Desconocido
	p53	17	75%	Disminución apoptosis	Tardío
	DCC	18	30%	Disminución adhesión	Intermedio
	NFI GAP	17	14%	Activación oncogen ras	Intermedio
Metastásicos	NM23	--	5%	Desconocida	Tardío
Hipometilación	--	Todo el genoma	Desconocida	Activación oncogenes	Precoz

Entre los CCR hereditarios destacan dos situaciones diferentes: el CCR Hereditario No Polipósico (CCR-HNP) y la Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF). El CCR-HNP o síndrome de Lynch es el CCR hereditario más frecuente, se considera que entre un 2% y un 6% de todos los CCR son debidos a esta entidad (*Midgley, 1999; Brezden-Masley, 2003; Guttmacher, 2003*). Presenta una transmisión autosómica dominante y se caracteriza por la predisposición de los pacientes que la sufren a padecer CCR sin poliposis, a edades tempranas (alrededor de los 45 años), con predominio en el colon derecho (hasta un 70% de

los CCR son proximales a la flexura esplénica) y con histología de CCR poco diferenciados (Guttmacher, 2003). Los pacientes presentan CCR sincrónicos o metacrónicos, así como cánceres extracólicos como carcinoma de endometrio, de ovario, de estómago, de intestino delgado, páncreas, vía biliar o cerebro (Watson, 1994). Para diagnosticar los casos de CCR-HNP se emplean los criterios de Amsterdam (Vasen, 1991; Vasen, 1999), que se basan en la historia familiar sobre CCR (criterio I) o sobre otros cánceres asociados al CCR-HNP (criterio II); ambos criterios se pueden observar en la tabla II. Las medidas de prevención en los pacientes afectos de CCR-HNP se tratarán en el apartado “Protocolos de Cribado”.

Tabla II: Criterios de Amsterdam para el diagnóstico de CCR-HNP.

<p><u>CRITERIO I DE AMSTERDAM</u></p> <p>Al menos 3 familiares deben tener CCR histológicamente documentado y:</p> <ul style="list-style-type: none">- Uno debe ser familiar de primer grado de los otros dos.- Deben estar afectas al menos dos generaciones sucesivas.- Al menos en 1 familiar afecto, el diagnóstico de CCR se debe realizar antes de haber cumplido 50 años.- Se ha excluido la PAF. <p><u>CRITERIO II DE AMSTERDAM</u></p> <p>Al menos 3 familiares deben tener un cáncer asociado al síndrome de Lynch (CCR, cáncer de endometrio, gástrico, ovárico, de pelvis renal, cerebral, de intestino delgado, de la vía biliar, o tumores sebáceos) y:</p> <ul style="list-style-type: none">- Uno debe ser familiar de primer grado de los otros dos.- Deben estar afectas al menos dos generaciones sucesivas.- Al menos en 1 familiar afecto, el diagnóstico del cáncer asociado se debe realizar antes de haber cumplido 50 años.- Se ha excluido la PAF.- Los tumores deben estar documentados.
--

La PAF es una enfermedad autosómica y dominante que se caracteriza por el desarrollo de cientos de pólipos adenomatosos en el colon durante las décadas segunda y tercera de la vida. Aunque cada pólipo individualmente tiene escaso poder de transformación a CCR, la presencia de cientos de ellos hace que el riesgo de desarrollo de un CCR alrededor de los 40 años sea del 100% (*Migdley, 1999; Guttmacher, 2003*). El gen que causa la PAF es el gen APC (gen de la Poliposis Adenomatosa Cólica), que se encuentra en el cromosoma 5. El diagnóstico de la enfermedad en un miembro de una familia afecta de PAF se realiza mediante un estudio genético, con una sensibilidad del 100%. A los pólipos cólicos se asocian pólipos en el estómago, duodeno o intestino delgado (también con alto potencial de malignización), carcinoma papilar de tiroides, sarcomas, hepatoblastomas, cáncer de páncreas y meduloblastomas del ángulo ponto-cerebeloso. Por tanto, se deberán realizar medidas de detección precoz para los tumores digestivos y extradigestivos (prácticamente sólo para el carcinoma papilar de tiroides) en los pacientes diagnosticados de PAF (*Guttmacher, 2003*), como se trata en el apartado de “Protocolos de Cribado”.

Finalmente, existen una serie de síndromes que se relacionan con un aumento del riesgo de padecer CCR y que se asocian a mutaciones de genes reconocidos en la actualidad. Son los Síndromes de Poliposis Hamartomatosa e incluyen el Síndrome de Peutz-Jeghers, la Poliposis Familiar Juvenil, la enfermedad de Cowden y el Síndrome de Bannayan-Ruvalcaba-Riley (*Guttmacher, 2003*). El síndrome de Peutz-Jeghers se produce por una mutación en el gen LKB1 e incluye pigmentación perioral, pigmentación de los dedos de las manos, pólipos hamartomatosos intestinales, cánceres de intestino delgado y páncreas y CCR. La Poliposis Familiar Juvenil se produce por una mutación en los genes Smad4, BMPRIA y PTEN y se caracteriza por la presencia de pólipos hamartomatosos en el tracto gastrointestinal que producen un aumento del riesgo de padecer CCR o cáncer gástrico. La enfermedad de Cowden se produce por una alteración en el gen PTEN y se caracteriza por la presencia de pólipos hamartomatosos en el colon, así como múltiples neoplasias benignas y malignas en la glándula tiroides, útero y mama. El síndrome de Bannayan-

Ruvalcaba-Riley se produce por una mutación del gen PTEN y se caracteriza por la presencia de microcefalia, fibromatosis, pólipos hamartomatosos del colon y hemangiomas.

2.3. ESTADIAJE TUMORAL

El estadiaje tumoral es un factor pronóstico de primera magnitud. En el caso del CCR, existen varias clasificaciones a las que se hacen referencia de forma indistinta en la bibliografía consultada y que es conveniente recordar. La clasificación se puede hacer por estadios de la enfermedad (estadios del 0 al IV), por el sistema internacional TNM (*“tumor, nodes and methastasis”*), por la clasificación clásica de Dukes (Dukes A a Dukes C) o su posterior modificación descrita por Astler-Coller (estadios del A al D) (Greene, 2002). Estas clasificaciones se pueden observar en la tabla III.

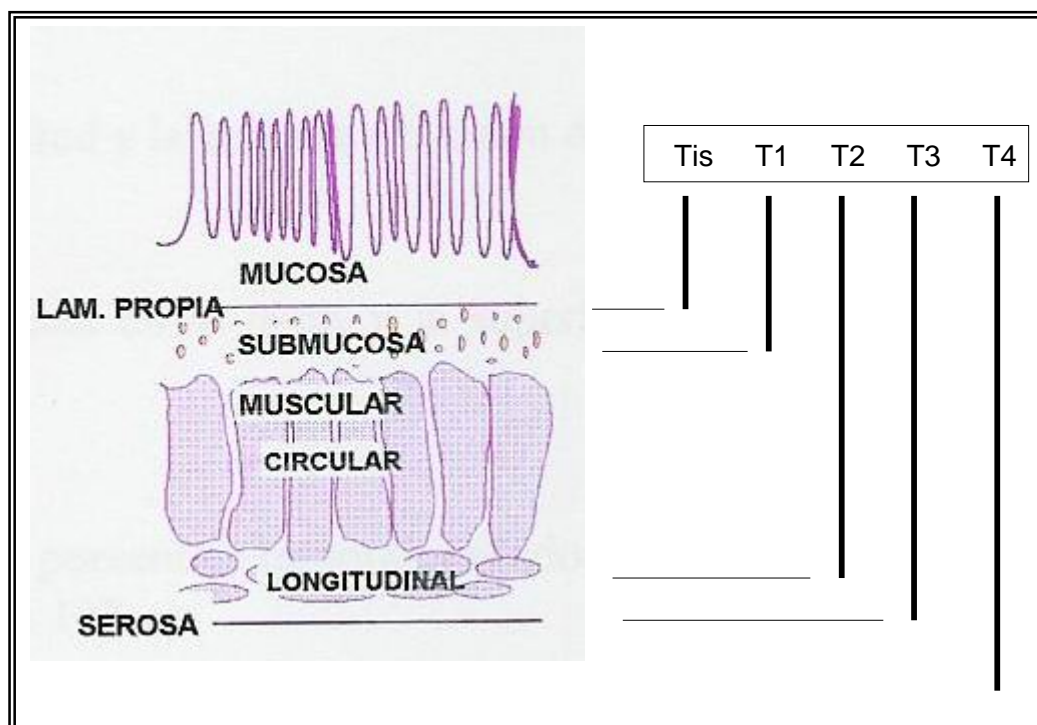
Todas las clasificaciones están relacionadas entre sí, pero su descripción toma como referencia la clasificación internacional TNM, que se divide en sus tres siglas. La T significa el tumor primario, y se puede clasificar en varias especies: Tx (no se pueden conocer las características del tumor primario), T0 (no existe evidencia del tumor primario), Tis (tumor *in situ*, confinado a la mucosa sin sobrepasar la lámina propia), T1 (el tumor invade la submucosa), T2 (el tumor invade la muscular propia), T3 (el tumor invade toda la pared del colon o recto) y T4 (el tumor invade otros órganos o estructuras adyacentes y/o sobrepasa el peritoneo visceral) (figura 3). La N significa los ganglios linfáticos regionales afectos y también se puede clasificar en varios estados: Nx (no se puede conocer la afectación de los ganglios), N0 (no existe afectación ganglionar), N1 (afectación de entre 1 y 3 ganglios) y N2 (afectación de 4 ó más ganglios regionales). La M significa metástasis a distancia en otros órganos, habitualmente el hígado y se puede clasificar en: Mx (no se puede conocer la existencia de metástasis), M0 (ausencia de metástasis) y M1 (presencia de metástasis a distancia) (Greene, 2002).

Tabla III: Diferentes clasificaciones para el estadiaje tumoral en el CCR.

ESTADIO	T	N	M	DUKES	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
I	T2	N0	M0	A	B1
II A	T3	N0	M0	B	B2
II B	T4	N0	M0	B	B3
III A	T1 – T2	N1	M0	C	C1
III B	T3 – T4	N1	M0	C	C2 / C3
III C	Cualquier T	N2	M0	C	C1 / C2 / C3
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1	-	D

MAC: Modificación de Astler-Coller de la clasificación inicial de Dukes.

Figura 3: Representación esquemática de los niveles de afectación de la pared cólica (T).



Además del estadiaje tumoral, interesan otras dos clasificaciones por su valor pronóstico. La primera se refiere al grado de diferenciación de las células tumorales y la segunda trata sobre la cantidad de tumor residual tras la resección quirúrgica del mismo. El grado de diferenciación celular se puede clasificar en varios estados: Gx (no se pueden conocer el grado de diferenciación del tumor primario), G1 ó BD (bien diferenciado), G2 ó MD (moderadamente diferenciado), G3 ó PD (pobremente diferenciado) y G4 (tumor indiferenciado). La cantidad de tumor residual tras la resección también se clasifica en varios estados: R0 (resección completa, ausencia de tumor residual tras la resección quirúrgica, márgenes libres de enfermedad microscópica), R1 (resección incompleta, evidencia de tumor residual microscópico, márgenes afectados de enfermedad microscópica) y R2 (resección incompleta, evidencia de tumor residual macroscópico, márgenes afectados de tumor macroscópico) (*Greene, 2001*).

2.4. ESTRATEGIAS ACTUALES EN EL TRATAMIENTO DE LOS TUMORES COLORRECTALES

2.4.1. Tratamiento de los adenomas colorrectales

Los adenomas o pólipos colorrectales son lesiones precancerosas, que suelen ser asintomáticas. La exéresis de estos adenomas conduce a una reducción de la incidencia de CCR y, por tanto, de su mortalidad. Esta exéresis se suele realizar por vía endoscópica (polipectomía endoscópica). El riesgo de recidiva de los adenomas es superior cuanto más grande sea el adenoma (mayor si es de un cm), cuanto más componente vellosa o displasia presente, o cuando los adenomas son múltiples (por lo que se recomienda realizar una colonoscopia total tras el diagnóstico de un adenoma colorrectal) (*Faivre, 2002*). Los resultados de esta práctica son espectaculares, con una reducción en la incidencia de CCR

de hasta el 80% (Winawer, 1993; Jorgensen, 1993; Thiis-Evensen, 1999). No existe una pauta de controles endoscópicos tras la polipectomía claramente establecida, sino que diferentes sociedades contra el cáncer han realizado la suya propia. Una de las más aceptadas es la siguiente: si el adenoma resecado es mayor de un cm de diámetro o tiene componente vellosa se realiza una colonoscopia de control a los tres años y si ésta es normal cada cinco años, si se resecan tres adenomas o más con diámetro mayor a un cm y componente vellosa se recomienda realizar una nueva colonoscopia en un año, y finalmente si el adenoma resecado resulta estar transformado en CCR (es decir, la displasia ha avanzado hasta dar un CCR localizado en la mucosa – o CCR *in situ* – o un CCR invasor que sea moderadamente o bien diferenciado, no tenga afectación ganglionar y con un margen de seguridad superior a un mm), se recomienda realizar una colonoscopia a los 3 meses para verificar el carácter completo de la exéresis (Faivre, 2002).

No obstante, algunos de estos adenomas no son tributarios de resección endoscópica y deben ser extirpados mediante resección quirúrgica. Esta situación la encontramos sobre todo en pólipos sesiles y de gran tamaño, sobre todo si asientan sobre haustras en el colon derecho. El tatuaje endoscópico de estas lesiones por vía endoscópica facilita enormemente su resección, favoreciéndose la aplicación de abordajes laparoscópicos.

2.4.2. Tratamiento del CCR

El tratamiento aceptado y clásico del CCR incluye una triada formada por la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia. Además este tratamiento no ha cambiado excesivamente en los últimos años, sólo ha tenido un papel más relevante la quimioterapia adyuvante o paliativa con la administración de nuevos regímenes que aumentan las tasas de supervivencia o la calidad de vida de los pacientes, pero la cirugía se mantiene igual y la

radioterapia ha ido sucumbiendo paulatinamente, excepto en el cáncer de recto localmente avanzado.

Tratamiento quirúrgico

La cirugía del CCR es la base del tratamiento de esta enfermedad. Existen tratados enteros dedicados exclusivamente a las técnicas quirúrgicas utilizadas según la neoplasia sea de colon ascendente, transverso, descendente, sigma o recto, así como existen especialistas dedicados de forma casi exclusiva al tratamiento quirúrgico del CCR, pero éste no es el motivo central de la tesis, por lo que se describirán de modo esquemático las opciones terapéuticas más comúnmente utilizadas.

La importancia del acto quirúrgico de la resección primaria de un tumor de colon es tal que el pronóstico del paciente está en relación directa con la cirugía. Incluso se postula que el cirujano es una variable pronóstica de primera magnitud, sólo superada por el estadiaje tumoral (*Dorrance, 2000*), sobre todo en el cáncer de recto.

Los principios generales del tratamiento quirúrgico en el CCR se pueden diferenciar según sea la intención del mismo: curativa o paliativa. La cirugía curativa debe incluir la resección local y completa del tumor con márgenes libres de enfermedad, la anastomosis colo-cólica, colo-rectal o ileo-rectal cuando sean posibles, así como la extirpación de los ganglios loco-regionales (*Roig, 2003; Lledó, 2003*). La resección del tumor con márgenes suficientes se suele corresponder con la realización de colectomías regladas: hemicolectomía derecha en los tumores de colon derecho, hemicolectomía derecha ampliada en los tumores de ángulo hepático del colon, transversectomía en los tumores de colon transverso, hemicolectomía derecha asociada a transversectomía en los tumores de ángulo esplénico del colon, hemicolectomía izquierda para tumores de colon descendente, sigmoidectomía para tumores de sigma-recto o resección anterior o amputación abdómino-perineal para los tumores de recto. La anastomosis colo-cólica se hace mediante una sutura manual o

utilizando instrumentos endoluminales (grapadoras), aunque en algunos casos como en las amputaciones abdomino-perineales se deja una colostomía definitiva. La resección de los ganglios afectos se hace en base a los datos macroscópicos de afectación ganglionar y determinan con frecuencia la amplitud de la exéresis del tumor primario.

La cirugía paliativa del CCR se aplica en caso de CCR avanzados, sin posibilidades de realizar una cirugía con intención curativa, pero que, dado el crecimiento exofítico de la tumoración y la ocupación de la luz del colon, podrían producir la oclusión cólica. Se pueden realizar dos actuaciones: bien una cirugía convencional con resección no radical o con cirugía derivativa en forma de colostomía o ileostomía definitivas, o bien la implantación endoluminal de stents metálicos, que tienen la ventaja de su menor invasividad sin afectar la supervivencia. Con una u otra actuación, se consigue eliminar las complicaciones derivadas de la oclusión cólica y mejorar la calidad de vida de estos pacientes (*Spinelli, 2001; Fazio, 2004; Johnson, 2004; Maetani, 2004*).

La cirugía del CCR complicado es una urgencia quirúrgica. Las complicaciones más comunes de los CCR incluyen, por orden de frecuencia, la oclusión intestinal y la perforación del colon, asociadas a elevadas tasas de mortalidad (*Biondo, 2003*). La oclusión intestinal por un CCR se produce entre el 8% y 29% de los pacientes, variando con la localización del tumor (los tumores de ángulo esplénico y de colon izquierdo son los que más se suelen ocluir) (*Runkel, 1998*). La incidencia de la perforación de un CCR puede variar entre un 2% y un 8%, de hecho se considera que el CCR es la segunda causa más frecuente de peritonitis por perforación del colon distal, sólo superada por la diverticulitis (*Biondo, 2003*). La perforación se suele producir en la zona tumoral por focos de necrosis en el tumor, aunque también se puede perforar la zona proximal al tumor (*Biondo, 2002*). El tratamiento quirúrgico debe seguir los pasos previamente descritos en los principios generales del mismo, incluyendo la realización de una anastomosis primaria en casos seleccionados, aunque se suele realizar una colostomía provisional o definitiva sobre todo en los CCR del

colon izquierdo, y se completa con la limpieza y drenaje adecuados de la cavidad abdominal y antibioticoterapia específica en caso de perforación. Los resultados de estas actuaciones urgentes suelen dejar una mayor tasa de mortalidad postoperatoria y a medio plazo que la de los tumores no complicados, probablemente por una mayor agresividad del tumor, la asociación del estado de desnutrición-deshidratación y sepsis y la dificultad que supone combinar en un solo acto quirúrgico tanto el tratamiento de la urgencia como el del cáncer (*Biondo, 2003*).

La cirugía de las metástasis hepáticas continúa siendo un tema a debate. La presencia de metástasis hepáticas es muy frecuente, de modo que entre un 10% y un 20% de los casos la enfermedad se diagnostica ya con metástasis hepáticas y hasta un 50% de los pacientes presentarán una recidiva hepática una vez resecado el tumor primario (*Landis, 1999*). Obviamente, la resección hepática es el tratamiento de elección de los pacientes con metástasis hepáticas de origen colorrectal (*Torras, 2003*). Sin embargo, se considera que en el momento del diagnóstico sólo un 10%-20% de los pacientes son resecables, por lo que se deben realizar actuaciones complementarias para rescatar para la resección metástasis hepáticas inicialmente irresecables; así cuando el problema es el número o tamaño de los nódulos hepáticos se puede utilizar quimioterapia neoadyuvante para rescatar para resección hasta un 16% de los casos, y si el problema es que tras la resección quedaría un remanente hepático insuficiente se podría utilizar la embolización portal preoperatoria que rescataría para resección hasta otro 16% de los casos (*Torras, 2003*). Con ello, se ha conseguido que la supervivencia global de los pacientes con metástasis hepáticas alcance entre el 26% y el 45% a los 5 años en casos muy seleccionados (*Scheele, 1995; Nordlinger, 1996; Nakamura, 1997*).

Tratamiento quimioterápico

Se deben diferenciar, del mismo modo que se ha realizado en el caso de la cirugía, la quimioterapia adyuvante que consiste en el uso de agentes citostáticos como complemento

a una resección local completa y con el fin de evitar recidivas y aumentar la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global, la quimioterapia neoadyuvante que consiste en la utilización de agentes quimioterápicos para rescatar para la resección situaciones consideradas inicialmente irresecables con intención radical, y la quimioterapia paliativa que se administra en casos de cánceres irresecables o metastásicos sin posibilidades de ningún otro tratamiento, para aumentar la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con enfermedad terminal (*Grávalos-Castro, 2003; García-Alfonso, 2003*).

Aproximadamente el 50% de los pacientes tratados con cirugía con intención curativa recaerán, a pesar de no existir evidencia macroscópica de tumor residual tras la resección quirúrgica. Se postula que quedarían células tumorales viables ocultas (o micrometástasis) que producirían dicha recidiva. Con el fin de erradicar dichas micrometástasis se utiliza la quimioterapia adyuvante. Se ha avanzado mucho en los protocolos de tratamiento quimioterápico adyuvante, de modo que hoy en día se pueden encontrar pautas que incluyen 5-fluoruracilo y leucovorín (5-FU / LV) a dosis bajas ($20 \text{ mg} / \text{m}^2$) durante un período de seis meses. En La tabla IV se pueden apreciar las pautas más comúnmente utilizadas para los estadios II y III de la enfermedad (*Grávalos-Castro, 2003*). Sin embargo, se están ensayando nuevos fármacos adyuvantes que están pendientes de saber cuál es su lugar en el tratamiento postoperatorio de la enfermedad local, tales como las fluoropirimidinas orales (capecitabina, UFT), el ratiltrexed, el irinotecán (o CPT-11) o el oxaliplatino (L-OHP), con resultados prometedores (*André, 2004; Taïeb, 2002; Fata, 2002*).

Tabla IV: Regímenes de quimioterapia adyuvante en el tratamiento del CCR.

<p><u>ESTADIO II</u></p> <p>* Indicación controvertida:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sólo en tumores de alto riesgo (complicados, localmente muy agresivos o pobremente diferenciados) - En casos seleccionados, sin contraindicación médica. <p>* Régimen: 5-FU / LV durante 6 meses.</p> <p><u>ESTADIO III</u></p> <p>* Indicación plenamente aceptada.</p> <p>* Régimen. 5-FU / LV durante 6 meses.</p>
--

La quimioterapia neoadyuvante se utiliza para rescatar para la resección metástasis hepáticas. Ya es conocido que en el momento del diagnóstico un 20% de los pacientes ya presentan metástasis hepáticas y que durante el seguimiento hasta un 40% las presentarán (*Landis, 1999*). Se están realizando varios ensayos clínicos comparando la pauta estándar del 5-FU / LV con otros regímenes de quimioterapia intravenosa e intraarterial hepática, pendientes de resultados. Mientras tanto, no existe ninguna opción terapéutica estándar tras la resección de metástasis de cáncer colorrectal. No obstante, en la práctica diaria generalmente se utiliza la pauta 5-FU / LV durante seis meses (*Grávalos-Castro, 2003*).

La quimioterapia paliativa se aplica en casos de CCR irresecables o metastásicos. Los esquemas terapéuticos actuales han conseguido duplicar la supervivencia global de la enfermedad metastásica, incrementar las tasas de respuesta y aumentar la calidad de vida de los pacientes, de modo que la supervivencia global de los pacientes sin quimioterapia es de unos seis meses y con esquemas que incluyen el 5-FU es de 11 meses (*Scheithauer, 1993; García-Alfonso, 2003*). Los esquemas clásicamente utilizados incluyen 5-FU, LV y

Levamisol (LEV) en proporciones variables. Con la introducción de nuevos fármacos y sus combinaciones, el panorama ha cambiado y las combinaciones de 5-FU / LV con irinotecán u oxaliplatino se han convertido en el tratamiento de elección de primera línea. Sin embargo, las pautas de quimioterapia paliativa están en constante revisión, ya que es en este subgrupo de pacientes en los que se están realizando más estudios para conocer la eficacia de nuevos fármacos y su lugar dentro del tratamiento del CCR avanzado; así se están realizando ensayos clínicos actualmente en fases II y III con fluoropirimidinas orales – capecitabina, UFT – (Pazdur, 1999; Carmichael 1999; Kim, 2002; Hoff, 2001; van Custem, 2001; Sakamoto, 2002) que han demostrado ser tan eficaces como el 5-FU y aportan la comodidad de la vía oral y menor toxicidad (García-Alfonso, 2003); con raltitrexed (Cunningham, 1996; Pazdur, 199; Cocconi, 1998; Maugan 2002; van Custem, 2002); con irinotecán o CPT-11 (Saltz, 2000; Douillard, 2000); con oxaliplatino (Giachetti, 2000; De Gramont, 2000; Grothey, 2001) o con combinaciones de estos fármacos (Kim, 2002; Comella, 2002; Souglakos, 2002). Los resultados de estos estudios son prometedores en cuanto a tasas de respuesta, tiempo hasta la progresión de la enfermedad y supervivencia, de modo que incluso la FDA aprobó el régimen Saltz (5-FU / LV / Irinotecan) como tratamiento de primera línea del CCR en marzo de 2000.

Tratamiento radioterápico

El uso de radioterapia adyuvante en el CCR es limitado, debido a la escasa incidencia de recidivas locales tras la cirugía radical (sólo un 3-4%). Su indicación se limita a un subgrupo de pacientes en los que, por la localización anatómica del tumor (en porciones poco móviles como el ciego, colon ascendente y recto-sigma, en las que es más difícil obtener unos márgenes quirúrgicos lo suficientemente amplios) y por el estadio patológico de la enfermedad (T4), presentaran una elevada incidencia de recidivas locales, así como cuando existiera persistencia de enfermedad macro o microscópica después de una cirugía realizada con intención curativa. Considerando los casos de cáncer rectal, la radioterapia está indicada en los pacientes de alto riesgo (con infiltración de toda la pared rectal y/o

afectación ganglionar), porque mejora el control locorregional contribuyendo a mejorar la calidad de vida de los pacientes (Grávalos-Castro, 2003; Espín, 2004). Existen discrepancias en cuanto al momento de la aplicación de la radioterapia en relación a la cirugía, aunque parece ser que la administración antes de la cirugía (radioterapia neoadyuvante) produce una mejor respuesta que si se administra postoperatoriamente, consiguiendo un descenso de la cifra de recidiva local comparada con un grupo control, de hasta el 40% en la primera opción frente a un 28% en la segunda (Marsh, 1994; Read, 2001; De Valle, 2003). Incluso se esgrime el uso de la radioterapia para preservar la función esfinteriana, ya que la reducción del tamaño tumoral antes del tratamiento quirúrgico permite en algunos casos realizar una resección anterior frente a una amputación abdómino-perineal (Rouanet, 1995; Grann, 2001).

2.5. RESULTADOS ACTUALES DEL TRATAMIENTO DEL CCR

Los resultados conseguidos con el tratamiento actual del CCR son discretos. La supervivencia global a los cinco años depende fundamentalmente del estadio del CCR en el momento del tratamiento, de modo que en las fases iniciales de la enfermedad (estadios T1-T2 ó A-B1) esta supervivencia ronda el 85-95%, en las fases en que ya se ha producido la invasión total de la pared cólica o ha habido metástasis a los ganglios locorregionales (estadios II-III ó B2-C) la supervivencia está alrededor del 30%, y si ya se ha diseminado a distancia (estadios IV ó D) la supervivencia global a los 5 años es menor del 5% salvo en pacientes seleccionados en los que se puede realizar la resección de las metástasis hepáticas. Ni los nuevos regímenes quimioterápicos, ni la cirugía más agresiva han conseguido variar de forma significativa este parámetro (Piqué, 1992; Grávalos-Castro, 2003).

2.6. SOLUCIONES A ESTOS RESULTADOS

Para mejorar estos resultados se están desarrollando actividades que pueden concluir en determinadas formas de actuar en el futuro y ya en el presente. Unas van encaminadas a aumentar el arsenal terapéutico contra el CCR (ensayos con agentes quimioterápicos más potentes o inmunoterapia), otras van encaminadas a un diagnóstico precoz de patologías premalignas o del propio CCR en fases más tempranas de la enfermedad (protocolos de cribado) y otras van encaminadas a la administración de sustancias químicas que consigan frenar el proceso de carcinogénesis independientemente de la fase en que se encuentre la enfermedad (quimioprevención) (*Letonturier, 2002*).

2.6.1. Nuevas pautas de tratamiento

Las nuevas alternativas que se están ensayando en el tratamiento del CCR incluyen fundamentalmente la inmunoterapia. Las células tumorales pueden ser destruidas mediante la respuesta inmunitaria mediada por células (linfocitos citotóxicos), aunque las células cancerígenas de los CCR son poco inmunogénicas por sí mismas. Por ello se han diseñado varios enfoques para intentar revertir esta situación. Uno de ellos es la vacunación y el otro el empleo de anticuerpos monoclonales (*Grávalos-Castro, 2003*).

Vacunación

Se han ensayado vacunas obtenidas a partir de células tumorales autólogas junto con BCG frente a observación tras cirugía del CCR, con resultados dispares: dos estudios demuestran un aumento de la supervivencia global y de la supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer de colon estadios II y III pero no en el cáncer de recto (*Hoover, 1993; Vermorken, 1999*). Sin embargo, estos resultados no se han confirmado con estudios con mayor tamaño muestral (*Harris, 1994*).

Anticuerpos monoclonales

Existen varios anticuerpos monoclonales que van dirigidos frente a antígenos habitualmente proteínas de superficie de las células tumorales. El primero en utilizarse fue el edrecolomab (EDR o Panorex ®), que se ha ensayado en varios estudios en pacientes con CCR estadio III, solo o asociado a la quimioterapia habitual (5-FU / LV), demostrando resultados variables (Riethmueller, 1998; Punt, 2001; Fields, 2002). La experiencia con el cetuximab ha sido más positiva, demostrando retrasar el crecimiento del tumor en 1,5 meses y aumentando las tasas de respuesta en hasta un 10%, razón por la cual ha sido recientemente aprobado por la *Food and Drugs Administration* norteamericana (FDA) como tratamiento adyuvante del CCR metastático en monoterapia o asociado a agentes quimioterápicos (fundamentalmente se ha estudiado con irinotecán) (FDA News, 2004).

2.6.2. Pautas preventivas

Existen una serie de medidas generales que favorecen la aparición de CCR y que deben ser abandonadas: fumar, beber, llevar una vida sedentaria, dieta con abundantes grasas y poca fibra, sobrepeso,... (American Cancer Society, 2004; Martinez, 2005).

Independientemente del abandono de estas conductas poco saludables se pueden realizar actuaciones específicas, encaminadas a disminuir la mortalidad por CCR. Se pueden diferenciar las pautas que intentan diagnosticar lesiones premalignas o CCR en fases precoces (protocolos de cribado) de las pautas que intentan detener el proceso de carcinogénesis independientemente de la fase evolutiva de la enfermedad (quimioprevención).

Protocolos de cribado

Existen varios regímenes de cribado de la enfermedad tumoral colorrectal que se han mostrado efectivos en la reducción de la mortalidad por CCR. Todos ellos persiguen la

detección y resección de pólipos o adenomas colorrectales sintomáticos o asintomáticos antes de su transformación, así como la detección y retirada de CCR en las fases más iniciales de la enfermedad cuando aún está limitada a la mucosa cólica (*Lieberman, 2002; American Cancer Society, 2004*).

Las pruebas más frecuentemente utilizadas son: el estudio de sangre oculta en heces, la sigmoidoscopia flexible, las técnicas de imagen (el enema opaco y la colonoscopia virtual) y la colonoscopia. En la tabla V se pueden observar las características de cada prueba.

Tabla V: Características de las pruebas de cribado para el diagnóstico precoz del CCR.

PRUEBA	VENTAJAS	UTILIDAD	COMPLEJIDAD	CARACTERÍSTICAS	COSTE
Sangre oculta en heces	No preparación del colon Realización en domicilio Bajo coste Efectividad probada No riesgo de lesión del colon	Intermedia	Baja	Posibilidad de perder polipos y CCR Falsos positivos – restricciones dietéticas Realización cada año Mejor con sigmoidoscopia flexible / 5 años Colonoscopia si se detectan alteraciones	Bajo < 20 \$
Sigmoidoscopia flexible	Minima preparación del colon Rápida Escasas complicaciones Se realiza cada 5 años	Alta (sigma)	Intermedia	Visualización del colon distal. No permite reseca polipos Pequeño riesgo de lesión del colon Mejor con test de sangre oculta en heces Colonoscopia si se detectan alteraciones	Medio 150-200 \$
Enema con doble contraste	Permite ver todo el colon Escasas complicaciones Se realiza cada 5 años No requiere sedación	Alta	Alta	Posibilidad de perder pequeños adenomas y CCR Requiere preparación del colon Colonoscopia si se detectan alteraciones	Medio – alto 300-400 \$
Colonoscopia	Permite ver todo el colon Toma de biopsias y resección de pólipos Se realiza cada 10 años Diagnóstico de otras patologías	La más alta	La más alta	Posibilidad de perder pequeños adenomas Requiere preparación del colon Suele requerir sedación Necesidad de hospitalización ó reposo Posibilidad de lesiones en el colon	Alto > 1000 \$

Estudio de sangre oculta en heces. Los pólipos y los CCR sangran intermitentemente a la luz intestinal, lo cual no suele producir una hemorragia macroscópica. La prueba permite detectar la presencia de sangre en las heces, recogiendo dos muestras de cada una de tres deposiciones consecutivas. Determinadas sustancias presentes en la alimentación (carnes rojas, zanahorias,...) pueden falsear sus resultados, por lo que deben ser eliminadas de la dieta varios días antes de la realización de la prueba. Existen varios estudios aleatorizados y controlados que han demostrado una reducción de la tasa de mortalidad del CCR entre el 15% y el 33% en los pacientes que se realizó el análisis frente a los que no se les realizó (Mandel, 1993; Hardcastle, 1996; Kronborg, 1996) y una reducción en la prevalencia de CCR de hasta el 20% (Mandel, 2000). Sin embargo, la limitación más importante de la prueba es que su efectividad depende del cumplimiento del paciente en repetirlo anualmente, ya que si se realiza una sola vez sólo es capaz de detectar un 25% de los CCR avanzados y no es efectivo en la detección de adenomas (Lieberman, 2001).

Sigmoidoscopia flexible. Como hasta el 70% de los CCR suelen asentar en el colon izquierdo, el estudio endoscópico de esta zona se puede utilizar para descartar la existencia de tumores colorrectales, extendiendo el estudio a todo el colon si aparecen tumores en el colon izquierdo. Existen estudios que demuestran reducciones significativas en la mortalidad por CCR de los pacientes en los que se realizó la prueba frente a los que no se les realizó (Selby, 1992; Newcomb, 1992). La principal limitación es la falta de estudio endoscópico del colon proximal, que puede dejar escapar hasta un 50% de tumores avanzados (entendiendo como tales a los CCR, adenomas con alto grado de displasia, adenomas vellosos o adenomas tubulares mayores de nueve mm de diámetro) (Imperiale, 2000), porcentaje creciente con la edad del paciente (pues en los pacientes más mayores aumenta la prevalencia de tumores del colon proximal).

Combinación sigmoidoscopia flexible y análisis de sangre oculta en heces. La combinación de ambas pruebas mejora los resultados conseguidos con una sola, de modo

que detecta hasta el 76% de los tumores avanzados (*Berry, 1997; Rasmussen, 1999; Lieberman, 2001*). La limitación sigue siendo la escasa detección de los tumores del colon proximal, se estima que no se detectan hasta el 25% de los tumores avanzados.

Estudios de imagen. Los estudios de imagen son más efectivos que la sigmoidoscopia para el diagnóstico de tumores colorectales ya que permiten la visualización de toda la longitud del colon. Sin embargo, la limitación más importante es la interpretación errónea de los hallazgos por una inadecuada preparación del colon, así como los errores en la detección de pequeños pólipos.

El enema con bario y aire (o enema de doble contraste) permite ver la superficie interna del colon, pero tiene grandes limitaciones ya que no identifica como patológicos hasta un 50% de los pólipos de diámetro mayor a un cm (*Winawer, 2000*).

La TC helicoidal - colonografía o colonoscopia virtual proporciona imágenes en tres dimensiones del colon. Es capaz de identificar hasta el 90% de los pólipos grandes y más del 50% de los pequeños (*Fenlon, 1999; Miao, 2000*). Si resulta positiva, sus resultados se deben confirmar con una colonoscopia convencional. Entre sus limitaciones están los errores de interpretación por una inadecuada preparación del colon (que disminuye mucho su sensibilidad y especificidad) y su elevado coste.

La RNM del colon todavía se encuentra en fase preliminar, pero parece que no será superior a la TC.

Colonoscopia. Permite la observación directa de la luz del colon en toda su extensión. Además permite la resección transluminal de los adenomas visualizados, con lo que constituye un método ideal de diagnóstico y tratamiento poco agresivo de los tumores limitados a la mucosa del colon (adenomas y carcinomas *in situ*). Existen trabajos que demuestran la utilidad de la colonoscopia para diagnosticar lesiones tumorales en pacientes asintomáticos, demostrando una prevalencia de tumores avanzados en esta población de entre el 7% y el 10% (*Lieberman, 2000; Imperiale, 2000*). Además, en estudios que valoran

también la resección de los adenomas diagnosticados durante un periodo de seis años, la prevalencia CCR se ha reducido hasta en un 80% en estos pacientes frente a las tasas esperadas para una población control (*Winawer, 1993*). Las limitaciones fundamentales de la colonoscopia son sus complicaciones potenciales, fundamentalmente la perforación del colon, que se presenta en el 0,3% de los casos y que requiere intervención quirúrgica (*Lieberman, 2000*). El grupo de pacientes con un mayor riesgo son los que presentan pólipos y éstos son resecados por vía endoscópica, aunque también es el grupo de pacientes que más se benefician de la prueba. Sin embargo, la colonoscopia es el método de cribado más efectivo para la detección de adenomas (detectando hasta el 95% de los tumores avanzados) y tiene un impacto mayor que cualquier otro método en la disminución de la incidencia de CCR.

Los protocolos de cribado se realizan de acuerdo con el riesgo individual de cada paciente a sufrir un CCR. En la Tabla VI se pueden apreciar las recomendaciones realizadas por la *American Cancer Society*. En los pacientes con un riesgo normal de padecer CCR, se pueden realizar cualquiera de las siguientes opciones a partir de los 50 años: test de sangre oculta en heces anualmente, sigmoidoscopia cada cinco años, colonoscopia cada 10 años o enema con bario y aire cada cinco años. En el resto de situaciones se suele preferir realizar colonoscopia.

Existen múltiples trabajos que defienden los protocolos de cribado del CCR como la actividad que presenta mayor efectividad, en cuanto a la reducción de la incidencia y mortalidad, y mayor coste-efectividad que cualquier otra intervención o tratamiento en el CCR (*Frazier, 2000; Loeve, 2000; Ness, 2000; Sonnenberg, 2000; Ramsey, 2003*). Sin embargo, el inconveniente más importante de estos protocolos es la escasa adherencia por parte del paciente, que se estima entre un 30% y un 40% en los Estados Unidos, lo que limita mucho su valor (*Frazier, 2000*).

Tabla VI: Recomendaciones de la American Cancer Society para el cribado del CCR.

RIESGO	CONDICIÓN	CCR %	RIESGO DE CCR	ACTUACIONES
Elevado	PAF	1%	100%	- Sigmoidoscopia en la adolescencia. - Estudio genético. - Colectomía total, si se detecta.
	CCR-HNP	2% - 6%	> 80%	- Colonoscopia bianual desde la 3ª década. - Estudio genético.
	Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII)	< 1%	Aumentado	Colonoscopia bianual desde los 10 años tras el diagnóstico de EII.
Moderado	Familiar de 1º grado de CCR	15-20%	Aumentado de 2 a 4 veces	Colonoscopia bianual desde 10 años más joven que la edad de diagnóstico en el familiar enfermo.
Normal	CCR Esporádico	70-75%	6%	Cualquier método a partir de los 50 años.

Quimioprevención

Consiste en la utilización de agentes químicos para prevenir o inhibir el desarrollo del proceso de carcinogénesis en todas sus fases, desde la aparición de las primeras anomalías moleculares en las células todavía morfológicamente normales hasta el estadio de tumor invasivo. Se han utilizado e investigado multitud de agentes químicos en la población general o en grupos seleccionados de pacientes (sobre todo aquellos con predisposición genética a sufrir tumores cólicos, como los pacientes que sufren PAF y sus familiares, pero también aquellos pacientes a los que se les han resecado adenomas o CCR para evitar recidivas de la enfermedad). Los estudios sobre la población general requieren habitualmente de una muestra poblacional exageradamente numerosa, que los hacen especialmente difíciles de realizar. Además, debido al mecanismo de acción de estas sustancias inhibiendo alguno de los diferentes pasos de la carcinogénesis, se deben

administrar durante el tiempo suficiente para que se lleve a cabo, siendo este hecho una limitación importante de algunos de los estudios que se reseñarán a continuación (*Benamouzig, 2002*).

La sustancia quimiopreventiva ideal debe cumplir los siguientes requisitos: demostrar su eficacia en la quimioprevención del CCR en estudios experimentales sobre modelos animales y en ensayos clínicos en seres humanos, ser una sustancia segura y tener una alta eficiencia (una elevada eficacia con costes aceptables para el sistema sanitario) (*Benamouzig, 2002*).

Se han investigado multitud de sustancias: unas son suplementos dietéticos y otras son fármacos.

Suplementos dietéticos. Existen trabajos contradictorios en cuanto al beneficio de un suplemento dietético de calcio en forma de disminución en la recidiva tras la resección de pólipos (*Garland, 1999; Baron, 1999; Bonithon-Kopp, 2000*). Una alimentación rica en folatos reduce la incidencia de tumores cólicos en ratas y en humanos (*Prinz-Langenohl, 2001*). Del mismo modo existen estudios con resultados contradictorios en cuanto al beneficio de un suplemento vitamínico, concretamente de β -carotenos, vitamina C y vitamina E, en cuanto a la recidiva de adenomas cólicos, aunque mayoritariamente ofrecen resultados negativos (*Greenberg, 1994; Hofstad, 1998; Albanes, 2000*).

Fármacos. Se han investigado y se siguen investigando en la actualidad muchos fármacos que pueden actuar como agentes quimiopreventivos de tumores colorrectales, con resultados dispares. Se han obtenido resultados prometedores al investigar el efecto del tratamiento hormonal sustitutivo (THS) en mujeres menopáusicas, existen trabajos que indican una reducción en el riesgo de padecer CCR de hasta un 60% de las mujeres con THS con respecto a las que no lo reciben (*Hebert-Croteau, 1998; Grodstein, 1999*). También

se han demostrado efectos quimiopreventivos positivos con la administración de AINE y últimamente se han conseguido resultados esperanzadores con los inhibidores selectivos de la COX-2, que es el tema central de la actual Tesis Doctoral.

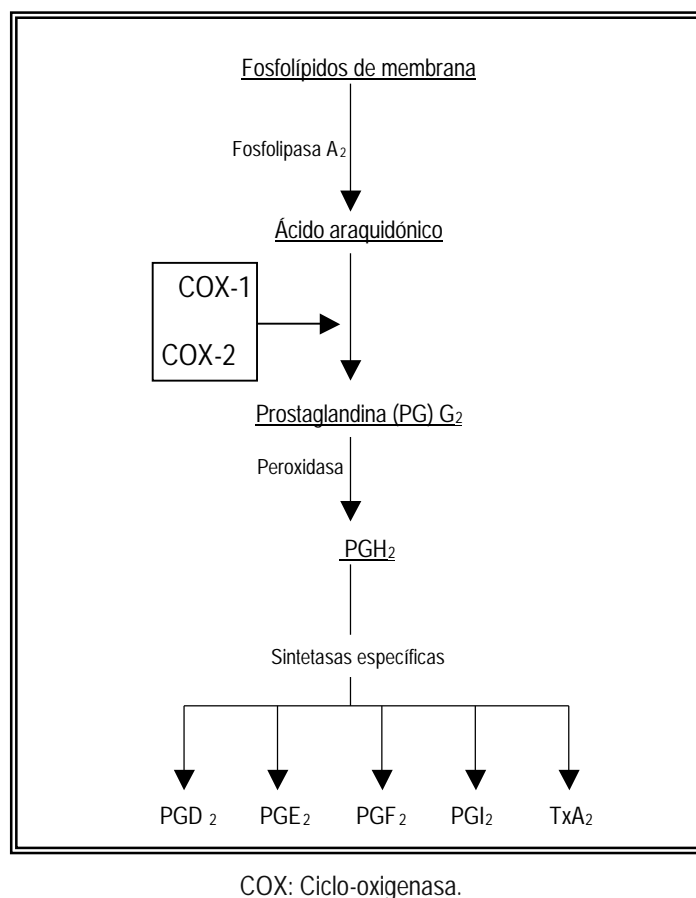
Fundamentos

3.1. BASES DE LA QUIMIOPREVENCIÓN DE LOS TUMORES COLORRECTALES CON AINE E INHIBIDORES DE LA COX-2

3.1.1. Ciclo-oxigenasas 1 y 2

La COX es la enzima que cataliza los dos primeros pasos de la síntesis de prostaglandinas (PG) a partir de ácido araquidónico. La vía de formación de las prostaglandinas se puede observar en la figura 3 (Sheehan, 1999).

Figura 4: Vía de formación de las prostaglandinas (PG) a partir de ácido araquidónico.



Existen dos isoformas de COX, estructuralmente similares y que catalizan la misma reacción química, pero que actúan en lugares y momentos diferentes: la COX-1 es constitutiva, se

manifiesta en la mayoría de los tejidos; mientras que la COX-2 es inducible por varios estímulos generalmente asociados con la inflamación aguda y crónica (*Vane, 1998; Brooks, 1999; Lipsky, 2000*).

La COX-1 se encuentra en la mayoría de los tejidos, pero fundamentalmente en las plaquetas, el riñón y el estómago y es responsable de la formación de prostaglandinas encargadas de mantener la agregación plaquetaria, el flujo sanguíneo renal, el filtrado glomerular y la protección de la integridad de la mucosa gástrica. La COX-2 es inducible por multitud de factores entre los que destacan citokinas responsables de la sintomatología típica de la inflamación (lipopolisacáridos, interleucina-1 (IL-1), Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), interferón gamma, ...), de modo que la actividad COX-2 aumenta hasta 20 veces en estas circunstancias (*Vane, 1998*).

Sin embargo, esto constituye una simplificación del problema, ya que la actividad COX-1 también aumenta ligeramente en la inflamación (hasta 4 veces la actividad basal en cualquier tejido), y la COX-2 es constitutiva en el cerebro, el riñón o en las gónadas, siendo importante en el proceso de la memoria, en la perfusión renal o en la ovulación e implantación del óvulo fecundado (*Lipsky, 2000*).

La inhibición de la COX-1 producirá, por tanto, disfunciones plaquetarias y mayor predisposición a padecer úlcera gastroduodenal (efecto adverso característico de los AINE), mientras que la mayoría de los efectos beneficiosos de los AINE se derivan de la inhibición de la COX-2 (actividad anti-inflamatoria).

La actividad COX-2 parece estar relacionada con la proliferación neoplásica en criptas aberrantes del colon, por inhibir la apoptosis o muerte celular programada de las células tumorales, inhibir la función de los linfocitos T-NK (*natural killer*), y por favorecer la expansión tumoral induciendo angiogénesis en el tumor (*Williams, 1999*).

3.2. Sobre-expresión de la COX-2 en los tumores colorrectales

Múltiples estudios han logrado aislar la enzima COX-2 del estroma de los adenomas cólicos (fundamentalmente de los macrófagos) y del estroma y del epitelio de los CCR (*DuBois, 1996; Bamba, 1999; Reddy, 2000-B*). Incluso algunos autores han relacionado la intensidad de la expresión COX-2 con la supervivencia del CCR (*Kargman, 1995*). También se han estudiado los efectos beneficiosos de aislar ácido ribonucleico (RNA) mensajero de la proteína COX-2 en las heces como cribado de los tumores cólicos (*Kanaoka, 2004*).

Es decir, la COX-2 se encuentra presente en los tumores colorrectales en seres humanos e indica una mayor agresividad tumoral. Por tanto, poder inhibir esta actividad podría ayudar a controlar la incidencia y recidiva de tumores colorrectales y, finalmente, la mortalidad asociada al CCR.

3.3. Fármacos inhibidores de la COX

Los fármacos que inhiben las COX son los AINE, cuyo primer exponente fue la obtención del AAS, aislado en 1829. Desde entonces la industria farmacéutica ha ido creando y produciendo nuevos anti-inflamatorios, de modo que estos fármacos se han convertido en los más recetados a nivel mundial (hasta 70 millones de prescripciones anuales en Estados Unidos) (*Green, 2001*).

Los AINE se pueden clasificar según la capacidad de inhibición de la COX-2, expresada como la inversa de la relación entre la concentración a la que el fármaco estudiado inhibe el 50% de la actividad COX-2 (COX-2 IC₅₀) y la concentración a la que inhibe el 50 % de la actividad COX-1 (COX-1 IC₅₀). De este modo, cuanto mayor es la constante resultante, más selectivo es el fármaco por la inhibición de la COX-2 (*Hawkey, 1999*).

Existen fármacos que inhiben preferencialmente la COX-2, que incluyen el meloxicam (que tiene una sensibilidad para la COX-2 entre 3 y 77 veces), el nimesulide (entre 5 y 16 veces) y el etodolac. Este último fármaco ha sido recientemente retirado del mercado por hepatotoxicidad.

Finalmente hay fármacos que inhiben selectivamente la COX-2 y que son los llamados coxibs, de los cuales existen dos generaciones: la primera, formada por el celecoxib y el rofecoxib y la segunda integrada por el parecoxib, valdecoxib, etoricoxib y lumiracoxib. Ambas generaciones se caracterizan por ser mucho más específicos que los fármacos inhibidores preferenciales en la inhibición de la COX-2.

Dentro de los coxibs de 1ª generación, celecoxib es 375 veces más selectivo en la inhibición de la COX-2 que en la de la COX-1; se administra en dosis de 200 mg cada 12 horas para tratar la artritis reumatoide y la artrosis. Rofecoxib es unas 800 veces más selectivo en la inhibición de COX-2 que en la de la COX-1; se administra a dosis de 12,5 ó 25 mg diarios para el tratamiento de la artrosis (*Scott, 1999*).

Ambos fármacos, por la inhibición selectiva de la COX-2 (sin presentar prácticamente inhibición sobre la COX-1), carecen de los efectos tóxicos característicos de los AINE (úlceras gastroduodenales -UGD- y sus complicaciones). Estas conclusiones se derivan de los estudios promocionales de estos fármacos: el estudio CLASS (*Celecoxib Long-term Arthritis Study*) (*Silverstein, 2000*) y el estudio VIGOR (*Vloxx Gastrointestinal Outcomes Research*) (*Bombardier, 2000*). Sin embargo, hay que destacar una frecuencia mayor de efectos adversos cardiovasculares, sobre todo en relación al consumo de rofecoxib.

La 2ª generación de coxibs se está empezando a utilizar en estos momentos sobre todo para el tratamiento del dolor (agudo o crónico) y de la artrosis. Parecen presentar la

característica común de una menor toxicidad gastrointestinal que los coxibs de primera generación, y la existencia de productos parenterales los hace útiles en el tratamiento del dolor agudo posoperatorio. Los primeros fármacos desarrollados han sido el parecoxib y el valdecoxib. El parecoxib es un profármaco, es insoluble, se administra por vía parenteral y su metabolismo produce valdecoxib, que es el fármaco activo.

Lumiracoxib es un coxib de 2ª generación que tiene una estructura química ligeramente diferente a los de 1ª generación (rofecoxib y celecoxib) y que hace que presente alta selectividad y tenga una vida media muy corta (entre 3 y 6 horas), características que permiten una menor exposición sistémica al fármaco (*Scout, 2002*).

3.4. Rofecoxib

Es el coxib de 1ª generación que presenta mayor poder de inhibición selectiva de la COX-2, motivo por el cual fue elegido en el presente trabajo. La molécula ha sido desarrollada por la empresa estadounidense MSD (*Merck, Sharp & Dohme*) y comercializada con los nombres de *Vioxx®* y *Ceox®*, para el tratamiento de dolor crónico producido por Artritis Reumatoide o artrosis, y para el tratamiento del dolor agudo, respectivamente.

Farmacocinética y farmacodinámica

Sus propiedades farmacocinéticas se pueden observar en la Tabla VII comparándolas con las del celecoxib. En el ser humano, rofecoxib se administra por vía oral, con una absorción intestinal rápida, alcanzando la concentración máxima en sangre en 2 horas. Se metaboliza ampliamente en el hígado fundamentalmente a través de la reducción de la molécula (vía independiente del citocromo P450), produciendo hasta 6 metabolitos diferentes, los cuales no demuestran tener una actividad detectable como inhibidores de la COX. Se elimina fundamentalmente por la orina (hasta un 72% del rofecoxib administrado) y en menor cantidad por las heces (un 14%) (*Ficha técnica de Rofecoxib*).

Tabla VII: Características farmacocinéticas de celecoxib y rofecoxib.

PARÁMETRO	CELECOXIB	ROFECOXIB
Absorción	T _{max} : 2,8 horas T _{1/2} : 11 horas	T _{max} : 2-3 horas T _{1/2} : 17 horas
Metabolismo	Hepático, vía citocromo P450	60% hepático, vía reductasa 40% hepático, vía citocromo P450
Excreción	27% orina 57% heces	72% orina 14% heces
Farmacocinética	Lineal	No lineal, saturable
Acumulación	No	Si

En ratas, rofecoxib presenta una farmacocinética similar. Presenta una absorción oral rápida y alcanza la concentración máxima en sangre a los 30 minutos tras su ingesta. Los incrementos de dosis por encima de 5 mg/kg no se traducen en un aumento del nivel plasmático del fármaco en ratas (*Halpin, 2000*). Tiene excreción biliar primaria y sus metabolitos derivados de la oxidación, glucuronoconjugación y reducción no son activos en cuanto a la inhibición de las ciclooxigenasas 1 ó 2 (*Nicoll-Griffith, 2000*). Según estudios clínicos de farmacocinética, las dosis altas a las que se ha empleado en este estudio, 3 mg / Kg / día, producen una inhibición mayor de la COX-2 y la tolerancia es adecuada (*Depre, 2000*).

Tolerabilidad y seguridad

La mayoría de los estudios que hablan de seguridad del fármaco se refieren a su tolerabilidad y seguridad gastrointestinal. De entre todos ellos, el estudio más importante es el estudio VIGOR, que además sirvió como estudio promocional del fármaco.

El estudio VIGOR (*Bombardier, 2000*) es un estudio aleatorizado y doble ciego que compara los efectos adversos gastrointestinales de rofecoxib a dosis de 50 mg diarios con naproxeno a dosis de 500 mg cada 12 horas en el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide. Incluyó 8076 pacientes, ninguno de los cuales tomaba aspirina para profilaxis de enfermedad cardiovascular. El parámetro de evaluación primario del estudio fue la incidencia de UGD y el secundario fue la incidencia de complicaciones de las UGD. El seguimiento medio fue de 9 meses. Al final del estudio, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la incidencia de UGD (2,1% con rofecoxib frente a 4,5% con naproxeno; $p < 0,001$), en la incidencia de complicaciones de las UGD (0,6% frente a 1,4%; $p = 0,005$) y en la incidencia de hemorragias digestivas (1,1% frente a 3%; $p < 0,001$). En resumen, el estudio VIGOR ha demostrado que el tratamiento de la artritis reumatoide con rofecoxib al doble de la dosis máxima recomendada se asocia con tasas significativamente menores de incidencia de UGD, complicaciones de las UGD y hemorragias digestivas comparado con las dosis estándar de naproxeno.

Sin embargo, el estudio VIGOR también alertó sobre la posible toxicidad cardiovascular del rofecoxib. La incidencia de infarto agudo de miocardio (IAM) fue del 0,4% en los pacientes tratados con rofecoxib frente al 0,1% de los tratados con naproxeno ($p < 0,01$), aunque la mortalidad cardiovascular fue del 0,2% en ambos subgrupos (diferencias no significativas). Estos resultados se atribuyeron al alto grado de selectividad por la inhibición de la COX-2 por parte del rofecoxib y sobre todo al efecto cardioprotector del naproxeno que se estimó podría ser tan alto como el del AAS (*Graham, 2002*).

Retirada del fármaco

Aunque ya se vislumbraba que los efectos adversos cardiovasculares del rofecoxib podrían suponer un problema, no se tuvo conciencia del mismo hasta el 30 de septiembre de 2004, fecha en la cual la propia compañía farmacéutica MSD retiró del mercado el rofecoxib a nivel mundial de forma voluntaria, debido a su toxicidad cardiovascular detectada en el estudio

APPROVe (*A*denomatous *P*olyp *P*REvention *O*n *V*loxx), un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y diseñado para conocer la eficacia de la administración de rofecoxib a dosis de 25 mg diarios en la prevención de la recurrencia de pólipos colorrectales en pacientes con antecedentes de adenomas colorrectales. El estudio abrió las inscripciones de pacientes en el año 2000 y se inscribieron un total de 2.600 pacientes. El estudio fue suspendido cuando se apreció un aumento del riesgo relativo de sufrir acontecimientos cardiovasculares adversos confirmados (IAM o ictus) a partir de los 18 meses de tratamiento en los pacientes que tomaban rofecoxib frente a los pacientes que tomaban placebo. Los resultados durante los primeros 18 meses del estudio no mostraron un aumento del riesgo de acontecimientos cardiovasculares (*Merck & Co. Inc., 2004*) (*Bresalier, 2005*). Los resultados del objetivo principal del estudio, conocer si se producía una disminución en la incidencia de adenomas colorrectales, todavía no han sido comunicados por estar en fase de análisis.

3.2. PRUEBAS DE LA RELACIÓN ENTRE AINE, INHIBIDORES DE LA COX-2 Y TUMORES COLORRECTALES

La asociación entre el uso de AINE y la prevención del CCR se estableció hace ya 25 años, primero en base a estudios en modelos animales al observar que las ratas expuestas a carcinógenos cólicos reconocidos y en tratamiento con AINE presentaban una reducción significativa en la incidencia y multiplicidad de estos tumores. Posteriormente, estos datos se vieron corroborados por estudios epidemiológicos en la población general y en grupos seleccionados de pacientes. Finalmente, se han realizado y se siguen realizando ensayos clínicos para valorar la eficacia de los AINE como fármacos preventivos del CCR. En la página web del *Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA) existe una relación completa de los trabajos más relevantes sobre quimioprevención de CCR realizados en modelos animales y en seres humanos (*INRA, 2005*).

3.2.1. Estudios en modelos animales

Existen más de 100 estudios publicados que evalúan a los AINE en la quimioprevención del CCR farmacológicamente inducido en modelos animales y más del 85% de ellos demuestran que reducen la incidencia y la multiplicidad de estos tumores (*Kudo, 1980; Wargovich, 1995; Rao, 1995; Giardello, 1995; Williams, 1997*).

Se han utilizado tres modelos de experimentación animal (principalmente en ratas y ratones): inducción carcinogénica mediante agentes químicos (tumores colorrectales farmacológicamente inducidos), ratones Apc (que consiguen una enfermedad similar a la PAF de los humanos) y estudios sobre líneas celulares de CCR animales (*Oshima, 2002*).

La carcinogénesis cólica farmacológicamente inducida se desencadena mediante la inyección peritoneal o subcutánea de sustancias carcinogénicas conocidas, como la 1,2-dimetilhidrazina (1,2-DMH), su metabolito intermedio metilazoximetanol (MAM), el azoximetano (AOM) o la N-metilnitrosurea (MNU). La mayoría de estos estudios, tanto los que estudian los efectos de los AINE no selectivos (*Pollard, 1981; Nigro, 1986; Reddy, 1992; Rao, 1995; Fukutake, 1998; Roy, 2001*) como los que utilizan coxibs (celecoxib y rofecoxib) (*Reddy, 1996; Kawamori, 1998; Reddy, 2000 B*), muestran una reducción significativa de la incidencia y multiplicidad de los tumores colorrectales.

El segundo modelo ha utilizado ratones Min (*Multiple intestinal neoplasia*) y ratones con mutación en el gen Apc⁷¹⁶. Los ratones Min presentan una mutación dominante en el codón 850 del gen Apc y se consiguen mediante tratamiento con un mutágeno químico, mientras que los ratones Apc⁷¹⁶ presentan una mutación dominante en el codón 716 del mismo gen y se consiguen mediante técnicas de ingeniería genética. Ambos grupos de ratones se caracterizan por el desarrollo de múltiples adenomas intestinales a edades tempranas, y son

superponibles a un modelo experimental de la PAF en humanos (*Su, 1992; Oshima, 1995*). Sobre estos ratones, los AINE no selectivos (piroxicam, sulindac y AAS) han reducido hasta en un 75% el número de pólipos intestinales (*Blazer-Barclay, 1996; Jacoby, 1996; Boolbol, 1996; Chiu, 1997; Barnes, 1998; Mahmoud, 1998; Mahmoud, 1999; Ritland, 1999; McEntee, 1999*). En cuanto a los inhibidores selectivos de la COX-2, la administración de celecoxib ha demostrado reducir la formación de los pólipos así como disminuir el número de los pólipos existentes antes del tratamiento (*Jacoby, 2000*). Del mismo modo, la administración de rofecoxib disminuye el número y tamaño de los pólipos intestinales en estos ratones (*Oshima, 2001*).

Finalmente, se han realizado trabajos mediante la inoculación subcutánea de líneas celulares procedentes de CCR de rata, concretamente la línea HCA-7 que expresa constitutivamente COX-2, y las líneas HCT-15 y HCT-116 que carecen de expresión de la COX-2. Estas líneas celulares se administraron a ratas atímicas y fueron tratadas con inhibidores de la COX-2 (meloxicam y celecoxib). Las conclusiones a las que llegan los trabajos realizados son similares a las ya descritas, es decir, los inhibidores de la COX-2 suprimieron el crecimiento tumoral en las líneas que expresaron COX-2 (*Goldman, 1998; Williams, 2000; Masferrer, 2000*).

3.2.2. Estudios epidemiológicos

Desde que Kune (*Kune, 1988*) apreciara una menor incidencia de CCR en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) consumidores crónicos de sulfasalazina (ASA), se han realizado multitud de estudios epidemiológicos intentando corroborar este dato. En la Tabla VIII se puede observar un resumen de los estudios más relevantes.

La mayoría de estos trabajos (estudios de cohortes o de casos-contrroles), refrendan el efecto protector del consumo regular de AAS (a dosis variables) y derivados contra

adenomas y CCR, tanto en su incidencia como en la mortalidad por CCR, con una disminución del riesgo de padecer adenomas entre un 50% y un 70% (*Peleg, 1996; Tangrea, 2001*), de padecer CCR entre un 30% y un 50% (*Kune, 1988; Rosenberg, 1991; Suh, 1993; Giovannucci, 1994; Giovannucci, 1995; García-Rodríguez, 2001; Rahme, 2003; Chan, 2004*), y de fallecer por CCR entre un 40% y un 50% (*Thun, 1991; Giovannucci, 1994*).

Sin embargo, existen otros trabajos que muestran que no existe relación entre el consumo regular de AAS y un efecto protector frente al CCR, concretamente en su incidencia, aunque son la minoría (*Schreinemachers, 1994; Reeves, 1996; Smalley, 1999*).

Finalmente, existe sólo un estudio que demuestra que los AINE no sólo no son efectivos en la reducción de la incidencia del CCR, sino que la aumentan. Se trata del estudio de cohortes *Leisure World*, que incluyó 13987 sujetos y demostró que el consumo crónico de AAS aumentó el riesgo de padecer CCR hasta 1,5 veces (Riesgo Relativo (RR): 1,5; Intervalo de Confianza al 95% (IC95%): 1,1-2,2), y ese riesgo se mantuvo durante el seguimiento de estos sujetos (*Paganini-Hill, 1989*). Las explicaciones a este dato se buscan en las dosis de AAS utilizadas, ya que más del 25% de los sujetos participantes en el estudio *Leisure World* tomaban AAS para la prevención de coronariopatía, a dosis mucho menores que las utilizadas para la artritis o el dolor crónico, lo cual podría explicar la ausencia de efecto protector de la AAS (*Paganini-Hill, 1995*).

Los estudios epidemiológicos han supuesto la primera evidencia en seres humanos del efecto protector de los AINE frente a los tumores colorrectales. Sin embargo, todos presentan la misma limitación: existe información incompleta en lo referente a las dosis diarias de fármacos utilizadas (la mayoría de los estudios que utilizan AAS lo hacen a dosis superiores a las utilizadas en la prevención primaria o secundaria de la cardiopatía

isquémica), a la duración del tratamiento y a la existencia de posibles factores de confusión por diferentes hábitos dietéticos o de estilo de vida.

Tabla VIII: Estudios epidemiológicos más relevantes.

AUTOR	AÑO	NEOPLASIA	N	PARÁMETRO	RR	IC 95%
Kune	1988	CCR	1.442	Incidencia	0,53	0,44-0,82
Paganini-Hill **	1989	CCR	13.987	Incidencia	1,5	1,10-2,20
Rosenberg	1991	CCR	6.217	Incidencia	0,5	0,4-0,8
Thun	1991	CCR	662.424	Mortalidad	0,6	0,4-0,9
Suh	1993	CCR	2.704	Incidencia	0,33	0,15-0,72
Schreinemachers *	1994	CCR	12.668	Incidencia	0,85	0,63-1,15
Giovannucci	1994	CCR	47.900	Incidencia	0,68	0,52-0,92
				Mortalidad	0,51	0,32-0,84
Giovannucci	1995	CCR	89.446	Incidencia	0,56	0,36-0,90
Peleg	1996	Adenomas	339	Incidencia	0,31	0,11-0,84
Reeves *	1996	CCR	477	Incidencia	0,65	0,40-1,03
Smalley *	1999	CCR	104.217	Incidencia	0,49	0,24-1
Tangrea	2001	Adenomas	-	Incidencia	0,51	0,33-0,79
García-Rodríguez	2001	CCR	43.903	Incidencia	0,50	0,40-0,70
Chan	2004	Adenomas	27.077	Incidencia	0,75	0,66-0,84

RR: Riesgo Relativo.

IC95%: Intervalo de Confianza al 95%.

Cursiva *: Estudios en los que no se demostró efecto protector.

Cursiva **: Estudio en el que se demostró un efecto predisponente.

3.2.3. Ensayos clínicos

En pacientes con PAF hay publicados unos 15 estudios que describen los efectos quimiopreventivos del sulindac u otros AINE sobre el número y el tamaño de los adenomas cólicos de esta enfermedad. La respuesta se presenta generalmente en pocos meses, pero la regresión completa de los adenomas es rara y suelen recidivar en un período de uno a cuatro meses tras el abandono del sulindac (*van Stolk, 2000; Dolara, 1999; Giardello, 1996; Hirota, 1996; Hirata, 1994; Niv 1994; Spagnesi, 1994; Tonelli, 1994; Friend, 1990; Rigau, 1991*). En cuanto a los inhibidores selectivos de la COX-2, se ha publicado un pequeño estudio sobre nimesulide administrado durante 10 semanas, que no mostró reducción ni en el tamaño ni en el número de adenomas en 7 pacientes con PAF (*Dolara, 1999*). Sin embargo, Steinbach (*Steinbach, 2000*), sobre una muestra de 77 pacientes con PAF, mostró reducciones del número y tamaño y regresión de adenomas colorrectales significativas usando celecoxib a dosis de 400 mg cada 12 horas, frente a placebo. Estos datos sirvieron para que la FDA aprobase al celecoxib como complemento al tratamiento estándar de la PAF. Este trabajo fue significativo por varios motivos: ofreció un tratamiento complementario a los pacientes con PAF y sirvió como referencia para estudios posteriores sobre otras neoplasias y especialmente sobre formas esporádicas de CCR.

En cuanto a neoplasias esporádicas del colon, existen tres estudios que demuestran que los AINE producen la regresión de los adenomas en un período de cuatro a seis meses (*Hixson, 1993; Ladenheim, 1995; Matsushashi, 1997*). En todos ellos se demuestra una tendencia a la reducción del tamaño y número de adenomas, aunque sólo uno de ellos presenta una relación estadísticamente significativa (*Matsushashi, 1997*). Otros estudios tampoco demuestran una asociación entre la administración de AINE y quimioprevención del CCR. Así, el *Physicians Health Study* (*Gann, 1993*) es el único gran estudio controlado con placebo que emplea AAS (a dosis de 325 mg diarios durante 5 años) y que está completado actualmente. Este estudio demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas

en cuanto a la frecuencia de nuevos CCR entre los grupos tratados con AAS y con placebo. Las explicaciones a estos resultados pueden estar en la corta duración del tratamiento, en la dosis de AAS administrada y en la relativamente baja incidencia de cáncer de colon en la cohorte de pacientes seleccionados en comparación con la población general.

Siguiendo esta demostración de quimioprevención del CCR utilizando celecoxib, se han iniciado varios ensayos clínicos que ya están en fase II y III utilizando otros AINE y también inhibidores selectivos de la COX-2 (*Simons, 2003; National Institutes of Health, 2003*), de los cuales se irán recogiendo resultados en los años siguientes. De entre todos ellos, cabe destacar los ensayos detenidos por la toxicidad cardiovascular de rofecoxib y celecoxib (APPROVe ó APC) (*Bresalier, 2005; Solomon, 2005*).

3.3. MECANISMOS PARA LA PREVENCIÓN DE LOS TUMORES COLORRECTALES MEDIANTE LA INHIBICIÓN DE LA COX-2

Por los estudios previamente descritos se sabe que los inhibidores selectivos de la COX-2 presentan efectos frente a la carcinogénesis espontánea e inducida. Algunos de estos efectos se pueden explicar por el hecho de inhibir la COX-2 sin prácticamente inhibir la COX-1; sin embargo hay otros efectos que parecen no estar mediados por la inhibición de la actividad COX-2 (*Anderson, 2002; Maier, 2004*).

3.3.1. Mecanismos quimiopreventivos dependientes de la inhibición de la COX-2

La expresión de la COX-2 en los tumores colorrectales se ha asociado a la inhibición de la apoptosis celular, a la inmunosupresión local del individuo y a favorecer la neoangiogénesis tumoral (*Williams, 1999; Anderson, 2002; Plaza, 2003*). La inhibición de la apoptosis o muerte celular programada dificulta la muerte de las células tumorales, lo cual las hace más

resistentes al ataque inmunológico. La inmunosupresión local dificulta la respuesta inflamatoria del sistema inmunológico (fundamentalmente mediada por células, y sobre todo por linfocitos T-NK) frente a las células tumorales. La angiogénesis favorece la neovascularización del tumor y la capacidad de invasión local y de producir metástasis a distancia. Todas estas acciones conducen, por tanto, al crecimiento e invasión del tumor.

La inhibición de estas acciones, inhibiendo la actividad COX-2, conduce a favorecer la apoptosis, restaura la inmunidad celular del individuo frente al tumor e impide la neoangiogénesis tumoral. Por tanto, la inhibición selectiva de la COX-2 frena el crecimiento e invasión tumoral e incluso se ha descrito la regresión de tumores pre-existentes.

3.3.2. Mecanismos independientes de la inhibición de la COX-2

A pesar de que la mayoría de los efectos quimiopreventivos de los inhibidores de la COX-2 se desarrollan a través de mecanismos dependientes de esa inhibición, existirían algunos efectos independientes que podrían explicar la disminución de la formación y crecimiento tumoral sin evidenciarse una disminución significativa de la actividad anti-COX-2 (*Anderson, 2002*).

Los mecanismos por los cuales los inhibidores de la COX-2 realizarían su efecto quimiopreventivo independientemente de la propia inhibición de la COX-2 actuarían sobre los mismos puntos que los descritos anteriormente: favorecer la apoptosis de las células tumorales, estimular la respuesta inmune del individuo mediada por citokinas y dificultar la angiogénesis.

La apoptosis se vería favorecida por varios mecanismos. Un incremento en las concentraciones de ácido araquidónico haría que ese exceso se convirtiera en esfingomielina y ésta en ceramida (sustancia inductora de la apoptosis) (*Chan, 1998*). Los

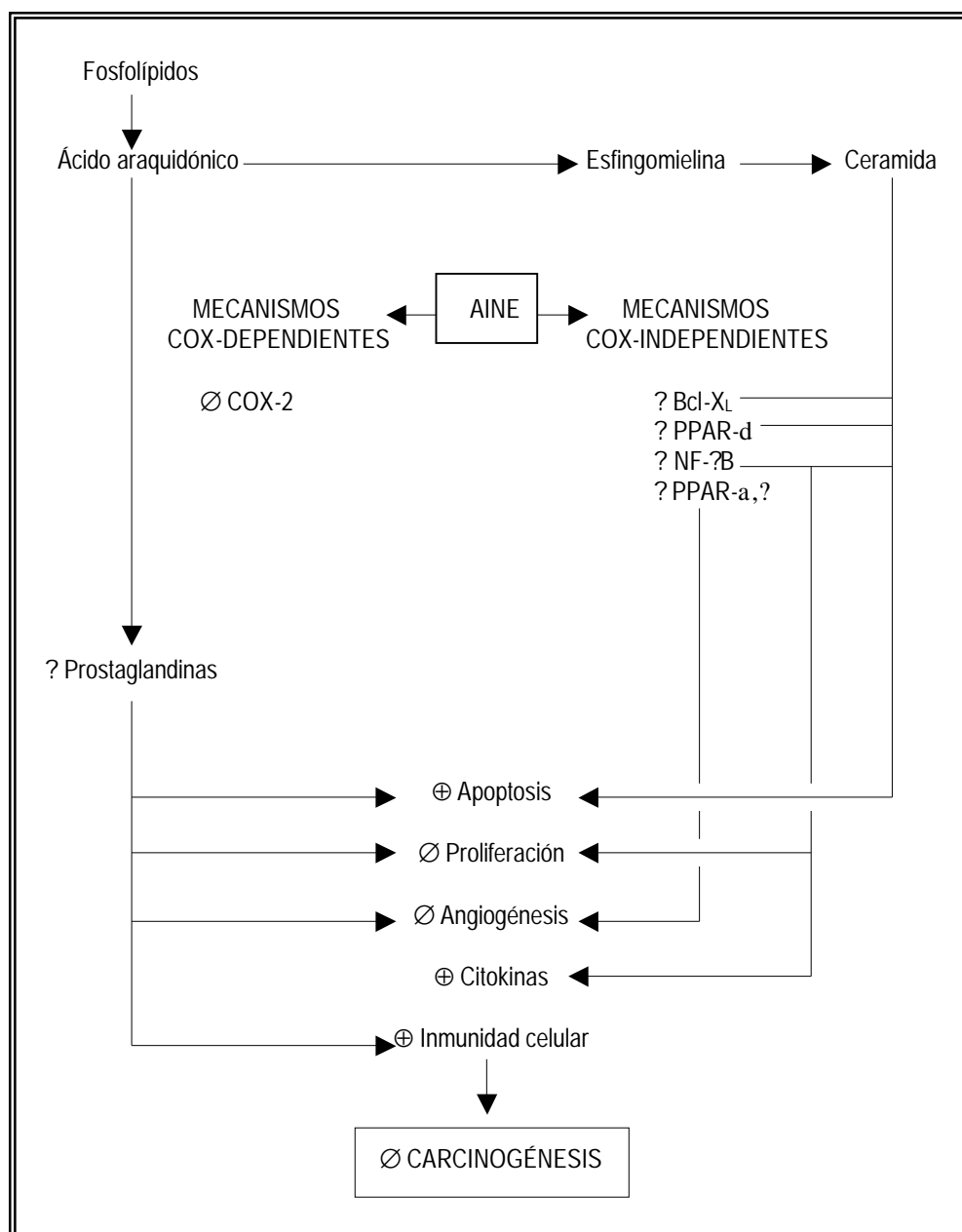
AINE (y también los coxibs) inhiben la proteína Bcl-X_L (proteína antiapoptótica), por lo que su inhibición favorece la apoptosis celular (*Zhang, 2000*). Existen multitud de sustancias llamadas “proliferadoras de peroxisomas” (PP) que activan determinados genes a través de receptores nucleares específicos, los llamados PPAR (“*peroxisome proliferator-activated receptors*”), de los que se conocen varios tipos; la inhibición del PPAR- α por los AINE y los coxibs estimularía la apoptosis de las células tumorales (*Park, 2001*). Los AINE y los coxibs pueden inhibir el factor NF- κ B, un factor transcriptor que regula la expresión de, entre otras sustancias, proteínas anti-apoptóticas, de modo que su inhibición podría frenar la expresión de estas proteínas y favorecer la apoptosis (*Yamamoto, 2001*).

La inhibición del factor NF- κ B también se ha relacionado con la activación de la expresión de citokinas pro-inflamatorias, que aumentaría la respuesta inmune del individuo frente a la proliferación tumoral (*Yamamoto, 1999*).

Los AINE y los coxibs también producen la activación de los receptores PPAR- α y PPAR- γ que regulan la expresión de genes que codifican proteínas que inhiben la angiogénesis tumoral (*Lehman, 1997*).

Los mecanismos dependientes e independientes de la actividad COX-2 se pueden apreciar en la figura 5.

Figura 5: Mecanismos quimiopreventivos dependientes e independientes de la inhibición de la COX-2.



Hipótesis de trabajo y objetivos del estudio

4.1. Hipótesis del trabajo

La hipótesis del trabajo es que la inhibición selectiva de la actividad COX-2, utilizando para ello rofecoxib por ser el inhibidor más potente desarrollado hasta el momento, posee un efecto preventivo de la carcinogénesis cólica farmacológicamente inducida en la rata Sprague-Dawley, frente al grupo control sin tratamiento de manera aislada y frente al grupo sometido a una inhibición no selectiva de la actividad COX-2, tratado con AAS.

La hipótesis nula sería la ausencia de diferencias significativas entre los grupos experimentales en relación a la inducción carcinogénica cólica.

4.2. Objetivos del trabajo

Los objetivos del presente trabajo son:

- Analizar el número de tumores cólicos, la superficie tumoral y el porcentaje de superficie tumoral en el colon de la rata, tras inducción neoplásica farmacológica.
- Cuantificar estos mismos parámetros en el colon de la rata tras tratamiento farmacológico con AAS y con rofecoxib oral, administrados concomitantemente a la carcinogénesis farmacológica.
- Determinar si existen diferencias en relación a estos parámetros, entre los grupos con y sin administración de rofecoxib.

- Determinar si existen otras diferencias entre los grupos, en relación al grado de diferenciación de los tumores, a su nivel de invasión parietal y a su capacidad de invadir tejidos extracólicos.

- Valorar si existe relación entre los resultados de modulación de la carcinogénesis inducida y la expresión de la COX-2.

Material y métodos

5.1. MATERIAL

5.1.1. Animales de experimentación

En el presente estudio se emplearon 35 ratas Sprague-Dawley (OFA-SD-hr) macho, de Iffa Credo ® (España). Su peso medio al inicio del estudio fue de 225 gramos (desviación estándar: 82, intervalo de 155 a 400 gramos).

5.1.2. Condiciones dietéticas y ambientales

Los animales fueron alojados en jaulas tipo III de Iffa Credo ® (España), colocando tres o dos animales por jaula. Las condiciones ambientales del estabulario fueron: período luz / oscuridad de 12 / 12 horas (luz de 8:00 a 20:00 horas); una temperatura constante de 22 ± 2 °C; y una humedad del 60 - 70%.

Se les administró una dieta de mantenimiento A.04 de Panlab (España), cuya composición viene especificada en la Tabla IX, mostrada en el apartado “Apéndices”. El agua administrada fue de la red urbana de aguas potables, apta para el consumo poblacional humano.

5.1.3. Fármacos empleados

Para la inducción y promoción de la carcinogénesis se utilizó 1,2 – dimetilhidracina dihidrocloruro (1,2 – DMH), de Sigma-Aldrich, España. La dosis utilizada fue de 25 mg / Kg de peso cada 7 días durante 18 semanas. La vía de administración fue subcutánea en la cara posterior de la raíz de las patas traseras.

La 1,2 – DMH es una sustancia en forma cristalina, por lo que para su administración, debió prepararse una solución estabilizante, de la siguiente manera:

- preparación de la solución EDTA (ácido etilen-diamino-tetra-acético) sódico 1 m? y esterilización en autoclave a 120 °C.
- preparación de la solución 1,2 – DMH – EDTA sódico al 0,5%.
- comprobación de la esterilidad de la solución mediante cultivo.

A un grupo de animales se les administró AAS a una dosis diaria de 30 mg / Kg de peso, durante 18 semanas, disuelto en agua de consumo. Al otro grupo se le administró rofecoxib a la dosis de 3 mg / Kg de peso por día y también durante 18 semanas, disuelto en agua de consumo.

En la anestesia de los animales para proceder a su sacrificio se utilizó una mezcla de Ketamina y Diazepam a partes iguales, y se administró por vía intramuscular a razón de 8 ml / Kg de peso.

5.1.4. Anticuerpos utilizados

La elección del anticuerpo correcto para valorar la expresión de COX-2 mediante técnicas de inmunohistoquímica fue un problema importante por la ausencia de referencias bibliográficas al respecto. Se probaron de manera inicial dos anticuerpos anti-COX-2, que se habían mostrado eficaces en la determinación de la expresión enzimática en tejido colorrectal en humanos: el anticuerpo sc-1746 ó Cox-2-(N-20) (de Santa Cruz Biotechnology, USA) y el anticuerpo NCL-COX-2 (de Novocastra Laboratorios, UK), aunque sólo los primeros ofrecieron una tinción adecuada.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Estimación del tamaño muestral

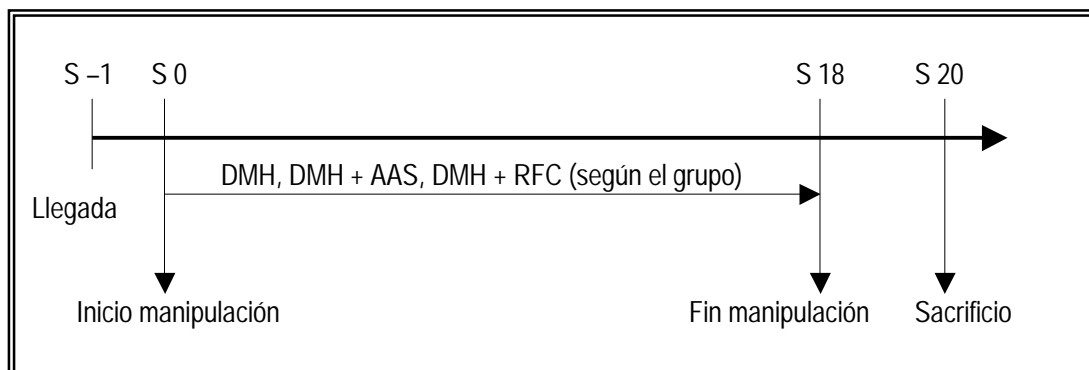
En un estudio previo en el que se diseñó el modelo experimental de carcinogénesis cólica farmacológicamente inducida (Noguera, 2000), los animales fueron asignados aleatoriamente a un grupo control y a un grupo con anastomosis colo-cólica, con posterior inducción carcinogénica con 1-2 DMH. En el grupo control se obtuvieron una media de 2,2 tumores por rata, una superficie tumoral media de 1,37 cm² y un porcentaje tumoral medio del 4,22%. Estimando trascendente una reducción del 30% en el porcentaje de tejido tumoral cólico inducido, este parámetro se debería situar por debajo del 3% en los grupos con frenación del proceso carcinogénico. Con la estimación de inducir una media de 2 neoplasias cólica por animal de experimentación y sin existir estudios previos con inhibidores selectivos de la COX-2 que pudieran orientar acerca del número de eventos necesarios, se estimó conveniente analizar 20 neoplasias por cada grupo, para lo cual se deberían incluir 10 animales por grupo.

5.2.2. Diseño del estudio

Se ha realizado un estudio experimental, prospectivo, aleatorizado, doble ciego, con tres brazos y controlado con placebo, en ratas expuestas a 1,2-DMH como carcinógeno cólico y manipulación experimental con fármacos (AAS o rofecoxib).

El esquema cronológico del trabajo se puede observar en la figura 6.

Figura 6: Esquema cronológico del estudio.



S -1: Semana previa al inicio de la manipulación

S 0: Semana del inicio de la manipulación experimental

S 18: Semana de finalización de la manipulación experimental

S 20: Sacrificio

5.2.3. Incorporación al estudio

Previamente a la manipulación experimental, los animales estuvieron en el estabulario durante una semana, como período de aclimatación a las nuevas condiciones ambientales.

Los animales se asignaron a cada uno de los cuatro grupos del estudio de forma aleatoria en función de la fecha de llegada de los animales al estabulario, de modo que se iniciaba la carcinogénesis con 1,2-DMH y se escogía al azar el tratamiento administrado: agua sin aditivos (Grupo DMH), agua con ácido acetilsalicílico (Grupo DMH + AAS) o agua con rofecoxib (Grupo DMH + RFC). Se realizaron tres grupos de 10 animales cada uno y a los 5 animales restantes no se les realizó actuación alguna. No fue preciso sustituir a ninguno de ellos por éxitus durante el seguimiento. A cada animal se le adjudicó un número aleatorio, que coincidió con el número asignado a las muestras posteriormente recogidas.

La administración del tratamiento fue llevada a cabo por un sujeto ajeno al grupo de experimentación (el personal del estabulario), de manera que quien administró la medicación desconocía qué sustancia estaba administrando al animal.

5.2.4. Manipulación experimental

La carcinogénesis se realizó administrando 1,2-DMH a razón de 25 mg / Kg de peso del animal y semana, vía subcutánea, durante 18 semanas consecutivas. Se alternó semanalmente el lado de la punción para prevenir la aparición de complicaciones locales.

Se confeccionó una tabla de dosis de carcinógeno en función del peso del animal, a fin de agilizar los cálculos de dosis / animal / semana y evitar que se produjeran errores de cálculo. Dicha tabla corresponde a la tabla X, que figura en el apartado “Apéndices”.

Al mismo tiempo, se administraron el AAS o el rofecoxib, según el grupo al que aleatoriamente fueron asignados, a las dosis previamente descritas, durante 18 semanas y disueltos en el agua.

5.2.5. Seguimiento

El seguimiento se hizo semanalmente, hasta la semana 20 (momento en el que se efectuó el sacrificio), atendiendo a los siguientes parámetros:

- Peso: valoración del peso del animal y de la dosis de carcinógeno a administrar.
- Calidad de las deposiciones: formadas, pastosas o líquidas.
- Rectorragias: aparición y duración de las mismas.

- Perímetro abdominal: valoración de aumentos del mismo como parámetro de obstrucción intestinal.
- Lugar de punción del carcinógeno: valorar complicaciones locales por la punción del fármaco, que pudieran modificar la absorción del mismo.

5.2.6. Sacrificio

El sacrificio de los animales se realizó en la semana 20^a. Para el sacrificio se administró una solución a partes iguales de Ketamina y Diazepam a una dosis de 8 ml / Kg de peso, con lo que se conseguía una relajación y sedación profundas, que hacía que fallecieran rápidamente durante la intervención cuando se abrían los diafragmas para la exploración del tórax.

La intervención consistía en una laparotomía en T por la línea media abdominal y extensiones laterales por debajo del tórax (figuras 7 y 8). En el abdomen se realizaba una proctocolectomía ampliada (desde el ileon terminal hasta el recto distal) (figura 9), se abría siguiendo una de las haustras del colon (figura 10) y se guardaba para estudio macro y microscópico. Posteriormente, se abrían los diafragmas, con lo que el animal fallecía en segundos y se realizaba una revisión visual de la cavidad abdominal en busca de tumores macroscópicos extra-cólicos, presentando especial atención al hígado, riñón e intestino delgado. Si no se localizaban lesiones visibles o palpables, no se guardaba tejido extra-cólico para posterior estudio histológico. Tras la exploración de la cavidad abdominal se abría el tórax por la línea media en busca de tumores macroscópicos visibles o palpables pulmonares y/o mediastínicos. Del mismo modo, si no se hallaban lesiones visibles o palpables no se guardaba material para estudio histológico.

Las muestras recogidas se guardaron en frascos con solución de formaldehído al 10%, numeradas con el mismo número aleatorio del animal al que pertenecían. El resto del animal se congeló para ser posteriormente eliminado según el mecanismo habitual de incineración del estabulario.

Figura 7: Laparotomía.

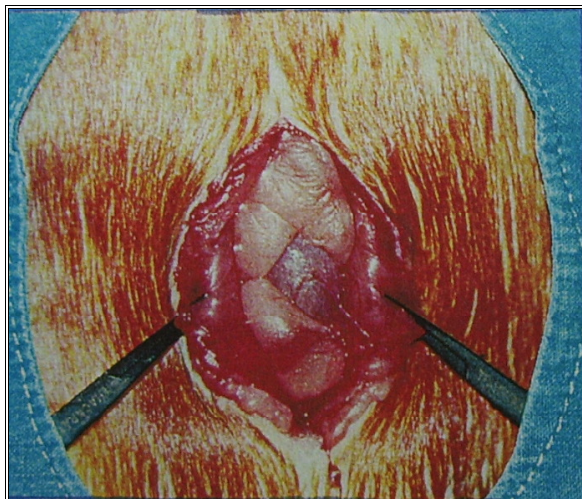


Figura 8: Exposición del contenido peritoneal.

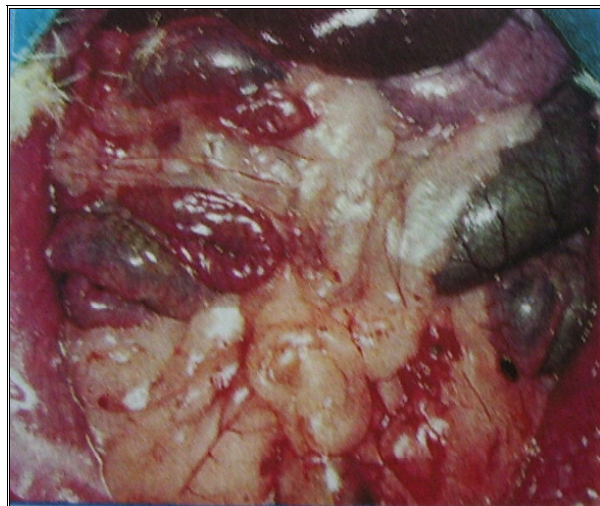


Figura 9: Pieza extraída.



Figura 10: Pieza abierta.



5.2.7. Medición de la proliferación neoplásica

Las piezas extraídas para estudio se identificaron con un número que coincidía con el asignado a cada animal cuando se incorporaba al estudio. De esta manera se garantizó el desconocimiento del grupo de estudio al que pertenecía cada muestra cólica al practicarse los estudios macroscópico y microscópico.

Los estudios macroscópicos y microscópicos de las muestras fueron realizados por un anatomopatólogo independiente del grupo experimentador y especialmente entrenado en el estudio de tumores de colon de ratas OFA por trabajos previos. El anatomopatólogo desconocía a qué grupo pertenecían cada una de las muestras remitidas.

Cada pieza fue extendida en una tablilla plana de corcho, fijando sus extremos. Se observó el tejido cólico con lupa binocular en busca de tumoraciones macroscópicas. Cada tumor se marcó con colorante Rojo Congo. Posteriormente, se procedió a hacer las siguientes determinaciones:

- Número de tumores macroscópicos (independientemente de su tamaño).
- Superficie tumoral (ST): determinada mediante la suma de la superficie de cada tumoración (S_t), expresada en cm^2 .
- Superficie cólica (SC): determinada por el producto de la longitud y la anchura del colon, expresada en cm^2 . Dado que la anchura del colon no era uniforme en toda su longitud, se tomaron cinco determinaciones de la anchura del colon en puntos equidistantes y la media de estas mediciones fue considerada como el valor del ancho de la pieza.

- Porcentaje de superficie tumoral (PST): resultado del cociente entre la superficie tumoral y la cólica, multiplicado por 100.

$$PST = ST / SC \times 100$$

Tras realizar estas determinaciones se elaboró un registro individualizado en el que figuraban los cuatro parámetros del colon de cada animal.

Al realizar el estudio de cada pieza, se fotografió la misma tras la tinción de los tumores con Rojo Congo para la confección del archivo fotográfico de las piezas estudiadas, pues con posterioridad serían remitidas para el estudio histológico. En las figuras 11, 12 y 13 se puede observar las fotografías resumen de cada grupo con la tinción rojo Congo de las tumoraciones macroscópicas.

Figura 11: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DHM.

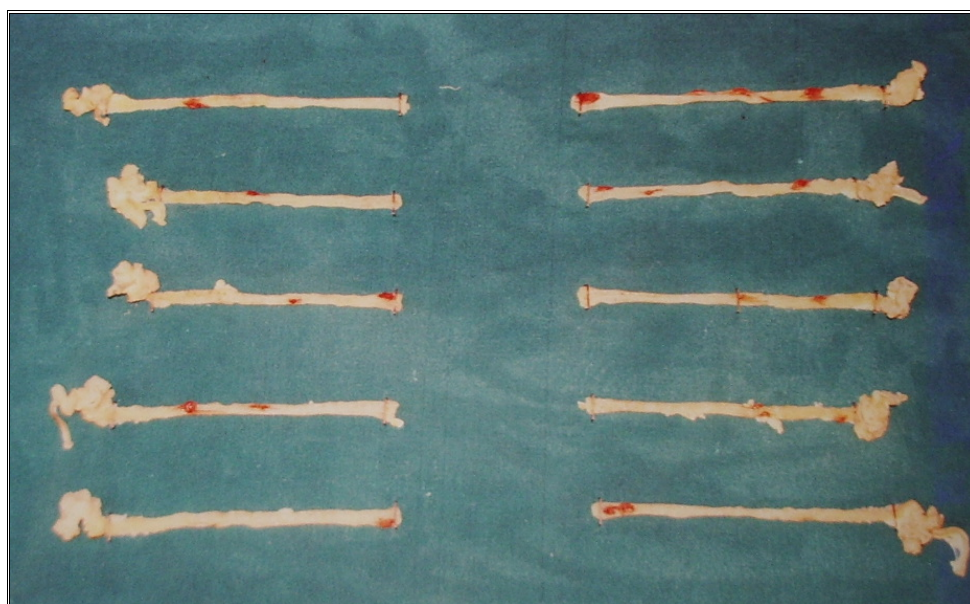


Figura 12: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DHM + AAS.

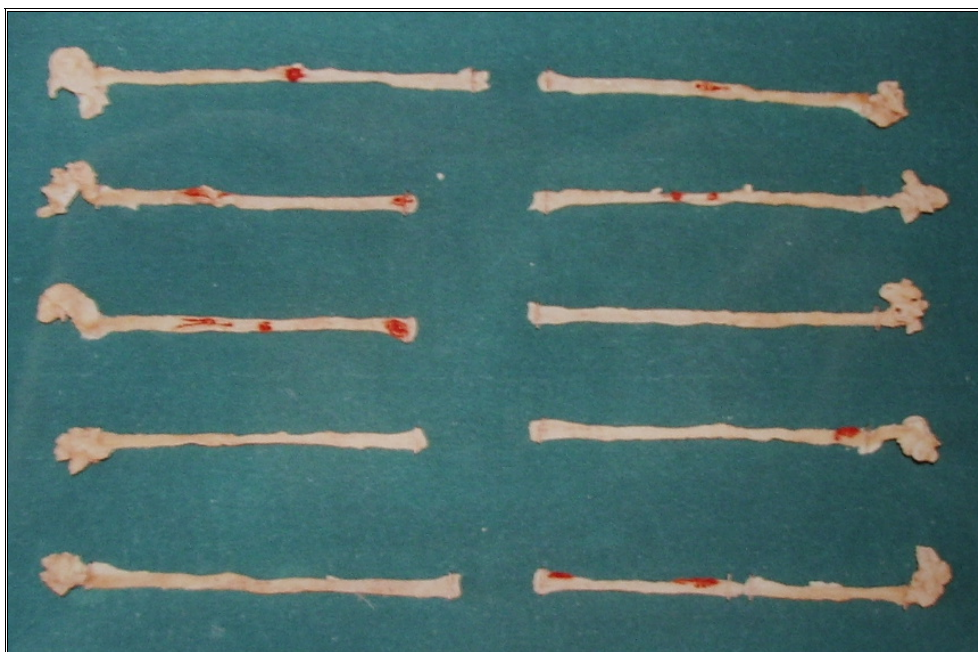
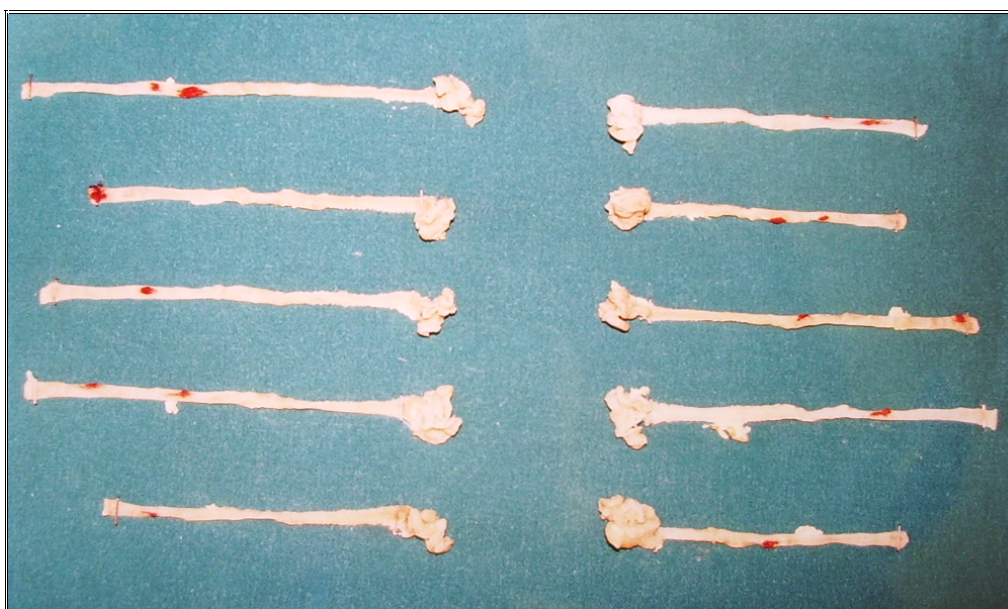


Figura 13: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DHM + RFC.



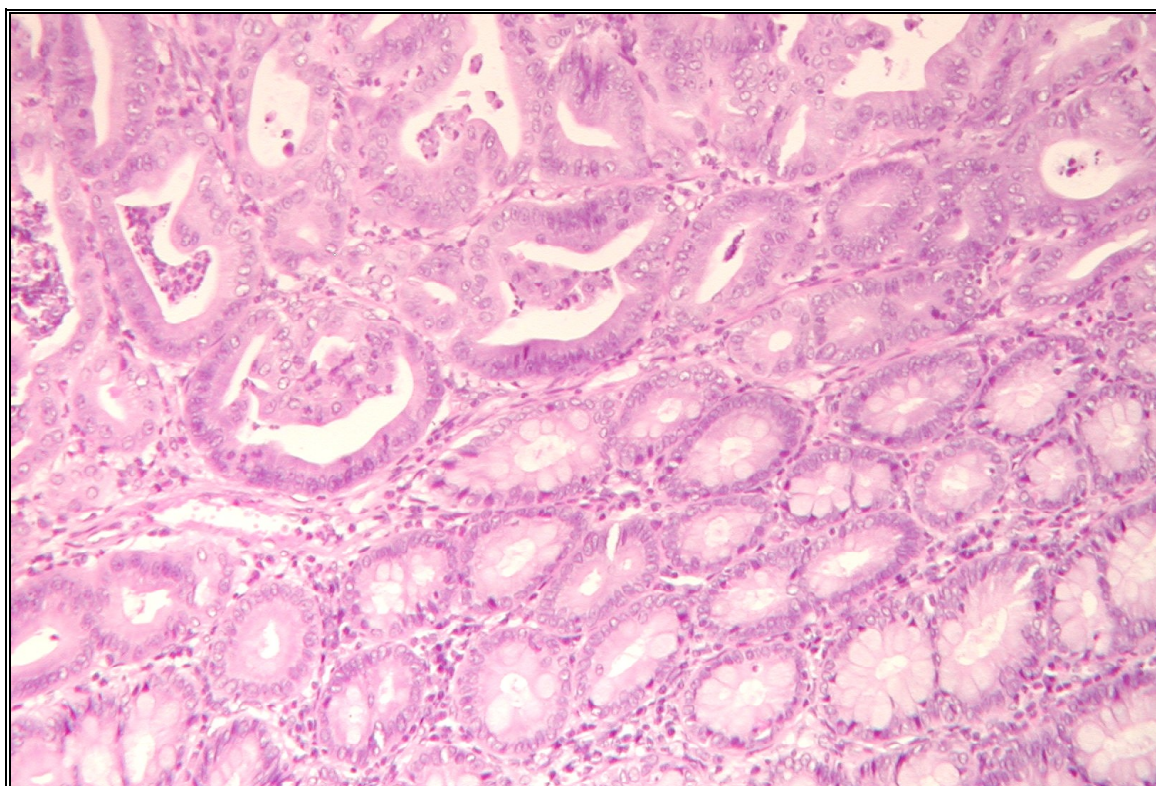
5.2.8. Estudio histológico

Cada pieza obtenida se conservó en formaldehído al 10% y se estudiaron con detalle las zonas que macroscópicamente fueron consideradas como patológicas. A partir de estos bloques de tejido fijado en formol y embebido en parafina se realizaron cortes en microtomo de 4 micras de grosor, obteniendo para tinción convencional de hematoxilina-eosina (*Merck*®), realizada en varios pasos:

- Desparafinado de la muestra con xilol, durante un período entre 20 y 60 minutos.
- Rehidratación de las muestras, con alcohol 100°, 96° y 70° durante 15 minutos en total y posterior lavado con agua.
- Tinción:
 - Hematoxilina de Carazzi, durante 20 minutos.
 - Lavado en agua corriente, durante 5 minutos.
 - Eosina, durante 2 ó 3 minutos.
 - Lavado en agua corriente, durante 5 minutos.
- Deshidratación de las muestras, siguiendo los pasos contrarios a los realizados en la rehidratación.
- Montaje de las preparaciones, utilizando bálsamo de Canadá diluido en xilol y cubiertas con portaobjetos de 24 x 50 mm.

En la figura 14 se puede observar la tinción Hematoxilina-eosina característica de un adenocarcinoma cólico.

Figura 14: Adenocarcinoma. Tinción Hematoxilina-eosina.



Se valoraron los siguientes parámetros microscópicos para cada tumor:

- ST y PST microscópicas.
- Tipo tumoral: hiperplasia linfoide, adenoma o adenocarcinoma (no específico, mucinoso o de células en anillo de sello).
- Grado histológico: pobremente, moderadamente o bien diferenciados (en el caso de los adenocarcinomas).
- Nivel de invasión: carcinoma *in situ*, submucosa, muscular o transmural (en caso de adenocarcinomas).
- Invasión tumoral de los ganglios pericólicos (en el caso de adenocarcinomas).

Con las determinaciones realizadas se elaboró un registro del estudio histológico de cada tumor analizado, de modo que se utilizaron para la comparación los tumores de cada grupo relacionados con su colon correspondiente.

5.2.9. Estudio inmunohistoquímico

Finalmente, se procedió a la tinción inmunohistoquímica con anticuerpos anti-COX 2 para valorar la expresión de la enzima en las mucosas normal y tumoral de las piezas extraídas. A partir de bloques de tejido fijado en formol y embebido en parafina se realizaron cortes en microtomo de 4 micras de grosor, obteniendo material para la tinción inmunohistoquímica. Para ésta, los cortes fueron introducidos en estufa a 60°C durante 12 horas, tras lo cual se pasó a desparafinarlos y rehidratarlos, desde alcohol absoluto hasta agua destilada, del mismo modo que se hizo en la tinción con hematoxilina-eosina. La tinción se hizo de la siguiente manera:

- Recuperación antigénica mediante olla a presión durante 60 minutos, lavado con agua destilada y con solución tampón PBS.
- Introducción de los cortes en máquina de inmunotinción automática (DAKO Autostainer ®), con los siguientes pasos:
 - Incubación del anticuerpo anti COX-2, sc-1746 ó Cox-2-(N-20), (de Santa Cruz Biotechnology, USA) (1/100), durante 60 minutos.
 - Lavado con PBS.
 - Incubación del anticuerpo secundario, durante 15 minutos.
 - Visualización y revelado (estreptavidina-diaminobencidina, de laboratorios DAKO ®).
 - Contrastado con hematoxilina 5 minutos.

Lavado con agua corriente.

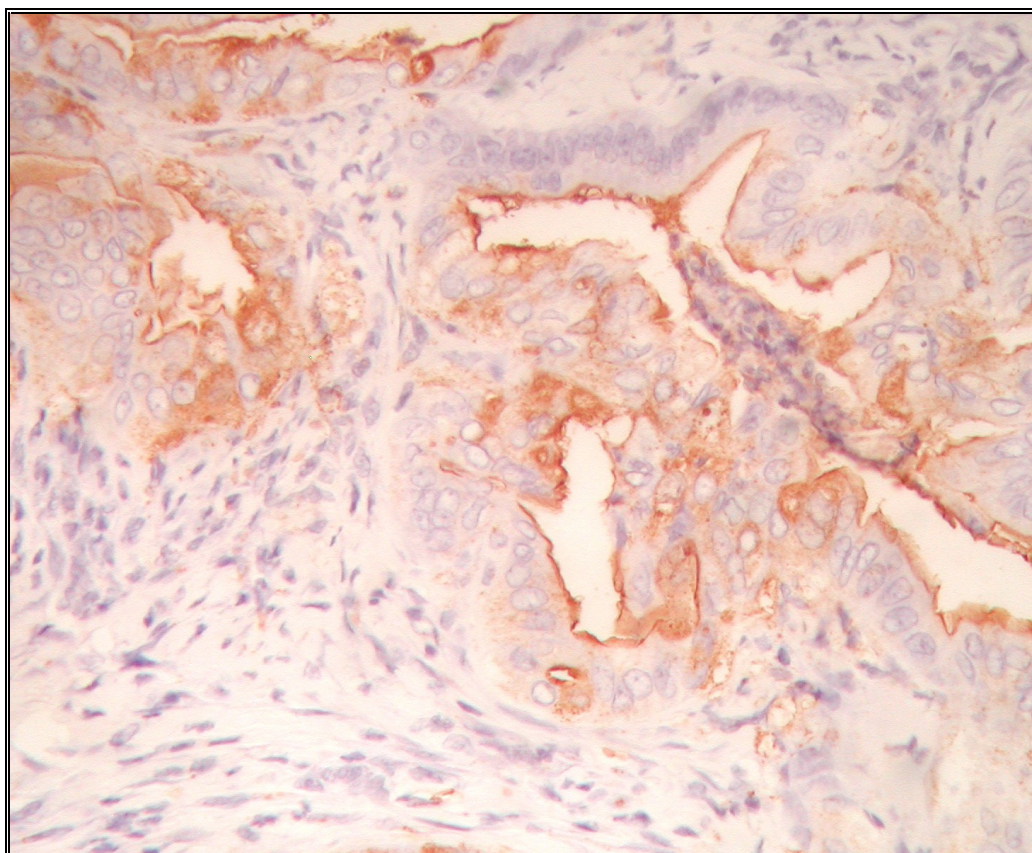
- Montaje de las preparaciones, del mismo modo que las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina.

Se valoraron los siguientes parámetros para cada tumor:

- Tinción anti-COX 2 en mucosa normal y en mucosa tumoral. El objetivo inicial fue realizar una gradación de la tinción anti-COX-2 según lo expuesto por Sheehan (Sheehan, 1999), que cuantificó la intensidad en la tinción en 4 grados según el porcentaje de células epiteliales de adenomas humanos que expresaron COX-2: grado 1 si la expresaron menos del 1% de las células, grado 2 si la expresaron entre el 2% y el 19%, grado 3 si la expresaron entre el 20% y el 49% y grado 4 si la expresaron más del 50% de las células. Sin embargo, en el presente trabajo no se consiguió una gama suficiente de tinciones, con lo que finalmente se identificó la tinción de forma cualitativa (sí / no).
- Tipo de la tinción (epitelial / estromal).
- Localización de la tinción dentro de las células epiteliales o estromales (ribete / globet).

En la figura 15 se puede apreciar una tinción COX-2 epitelial característica de un adenocarcinoma, marcada con una fina tonalidad rojiza.

Figura 15: Adenocarcinoma. Tinción inmunohistoquímica de la actividad COX-2.



5.2.10. Recogida de datos y análisis estadístico

La recogida de datos se realizó en hojas de cálculo de Microsoft Excel 5.0 ® y en base de datos de Dbase III.

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante la comparación de medias y modelos Anova de dos colas, especialmente con las pruebas de LSD y de Scheffe (también se consideraron los resultados de las pruebas de Bonferroni y de Tukey HSD), con el programa SPSS 9.0 para Windows. Se consideró significación estadística cuando se obtuvo un valor de “p” inferior a 0,05.

Resultados

Se ha excluido del análisis a los animales del grupo control estricto (n=5) en el que no se realizó ninguna manipulación. En este grupo, tras haberse mantenido en las mismas condiciones dietéticas y ambientales que el resto de animales, la incidencia de tumores espontáneos cólicos o extracólicos fue nula.

Se describen a continuación los resultados de los 30 animales restantes, y de los tumores en ellos desarrollados, repartidos en los tres grupos experimentales: con inducción carcinogénica (Grupo DMH, n=10), carcinogénesis e inhibición no selectiva de la COX (Grupo DMH + AAS, n=10) y carcinogénesis e inhibición selectiva de la COX-2 (Grupo DMH + RFC, n=10).

6.1. RESULTADOS “CLÍNICOS”

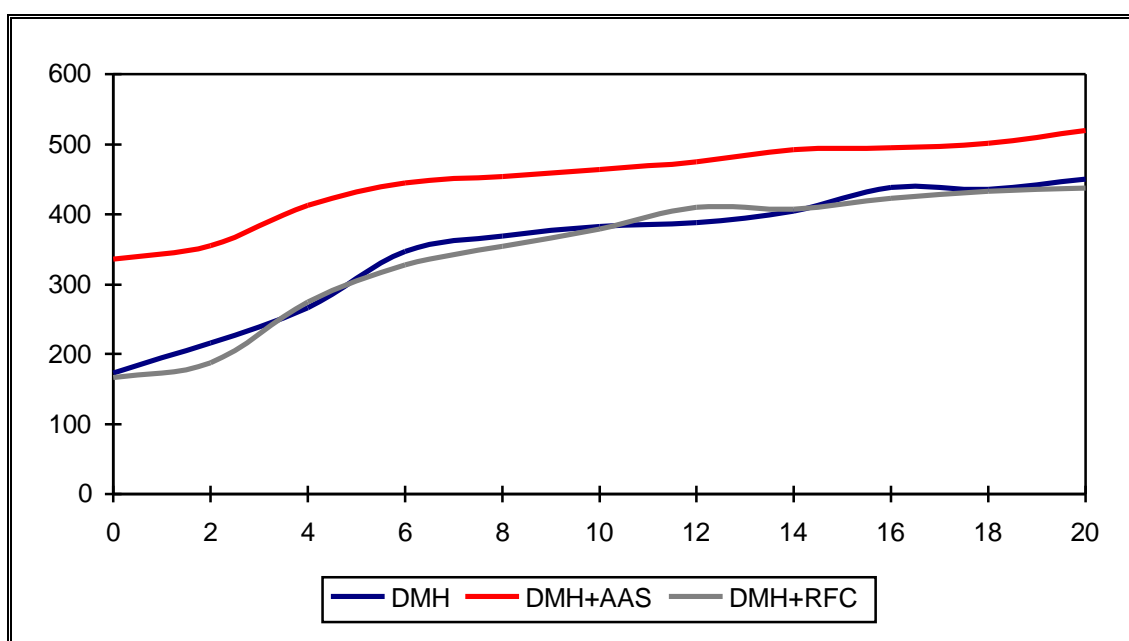
6.1.1. Incrementos de peso y curvas de crecimiento

Los datos del peso de los animales determinados semanalmente durante el estudio fueron recogidos en una base de datos, que se puede apreciar en la tabla XI, expuesta en el apartado “Apéndices”. Del mismo modo, estos datos se organizaron en forma de representación gráfica de sus medias conforme lo observado en la Figura 16.

El peso medio en el momento de la inclusión al estudio de las ratas del grupo DMH + AAS fue de 336,5 gramos (DE: 36,82), mientras que el de los otros dos grupos fue similar (173 gr (DE: 9,19) para el grupo DMH y 166 gr (DE: 5,16) para las ratas del grupo DMH + RFC). Existieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al peso en el momento de la inclusión entre el grupo DMH + AAS y los otros dos ($p < 0,00001$), mientras que no se apreciaron diferencias entre los grupos DMH y DMH + RFC ($p = 0,78$).

El peso medio en el momento del sacrificio de los animales del grupo DMH + AAS (519,5 gr, DE: 49,80) se mantuvo más alto que el del resto de animales (451 gr (DE: 31,07) para el grupo DMH y 437,5 gr (DE: 38,24) para las ratas del grupo DMH + RFC). Estas diferencias continuaron siendo significativas a favor del grupo DMH + AAS con respecto a los otros dos ($p < 0,002$), mientras que no se apreciaron diferencias entre los animales de los grupos DMH y DMH + RFC.

Figura 16: Medias de peso de los animales de los tres grupos y ganancias ponderales.



6.1.2. Dosis de carcinógeno administradas

La dosis de carcinógeno se administraron semanalmente, por inyección subcutánea y según el peso del animal en el momento de la administración. En la tabla XII se pueden apreciar las dosis administradas, esta tabla está expuesta en el apartado “Apéndices”. Obviamente, las dosis de carcinógeno administradas a las ratas del grupo DMH + AAS fueron mayores que las administradas a los animales de los otros grupos, pues el peso de los primeros fue siempre significativamente mayor.

6.1.3. Alteraciones al tránsito cólico

Hubo un caso de alteración del tránsito digestivo que se trató con restricción dietética, a pesar de que tras el estudio macroscópico del colon en el sacrificio de los animales no se halló ninguna neoplasia que fuera total o parcialmente estenosante.

No se produjeron alteraciones en la calidad de las deposiciones (diarreas, rectorragias) de ninguno de los animales de experimentación.

6.1.4. Complicaciones del lugar de punción

Fue la complicación más frecuentemente detectada en el estudio, aunque de escasa importancia ya que habitualmente se manifestó en forma de pequeñas necrosis parcelares cutáneas atribuidas a una inoculación de volumen superior a un ml. Todas ellas se resolvieron espontáneamente dejando la zona de punción afecta en reposo durante dos semanas.

6.1.5. Mortalidad

No hubo mortalidad atribuible a las neoplasias cólicas inducidas ni derivadas de la administración del carcinógeno ni de las sustancias anti-inflamatorias, a pesar de que las dosis utilizadas en el presente estudio fueron muy superiores a las dosis terapéuticas extrapoladas a seres humanos y durante un período largo de tiempo.

6.2. RESULTADOS MACROSCÓPICOS

Los parámetros macroscópicos no guardaron una relación estricta con los parámetros microscópicos ni en lo que se refiere a tipificación tumoral ni en el tamaño de cada tumoración, de modo que los resultados del estudio se basaron en los parámetros microscópicos por ser los más fiables. De todas formas, cuando sí se encontró una adecuada correlación entre los datos macroscópicos y los microscópicos es cuando se refirió a los adenocarcinomas, de modo que la apreciación de una tumoración como maligna lo fue en muchos casos. Los datos macroscópicos tienden a aumentar las superficies tumorales por confusión de la mucosa normal peritumoral con tumor macroscópico.

A pesar de todo ello, en las tablas XIII y XIV se exponen los resultados macroscópicos aún sabiendo que no resultaron fiables, estas tablas se pueden observar en el apartado “Apéndices”. Por ello, no se realizan cálculos estadísticos con los datos macroscópicos. En las figuras 11, 12 y 13 se han podido apreciar las fotografías resumen de los intestinos gruesos de los tres grupos experimentales, con las tumoraciones macroscópicas detectadas teñidas con Rojo Congo, mostradas en el apartado “Material y Métodos”.

No se apreciaron tumores extracólicos, ni metástasis hepáticas o pulmonares macroscópicos.

6.3. RESULTADOS MICROSCÓPICOS

Los parámetros microscópicos, desglosados por tipos de tumor, se pueden apreciar en las tablas XV, XVI y XVII mostradas en el apartado “Apéndices”. En la tabla XVIII se puede observar el resumen de los parámetros microscópicos. En las tablas XIX, XX y XXI se detallan los resultados de la prueba de Anova de dos colas para los tumores benignos, malignos y totales; estas tablas se muestran en el apartado “Apéndices”.

Tabla XVIII: Resumen de los parámetros microscópicos.

GRUPO	ADN	STB	PSTB	ADC	STM	PSTM	N	STT	PSTT
DMH	10	0,327	3,064	10	0,429	4,083 *	20	0,378 *	3,573 *
DMH + AAS	8	0,288	2,517	13	0,337	2,940	21	0,318	2,779
DMH + RFC	9	0,164	1,493	7	0,190	1,530 *	16	0,175 *	1,509 *

ADN: Adenoma. STB: Superficie tumoral benigna. PSTB: Porcentaje de superficie tumoral benigna.

ADC: Adenocarcinoma. STM: Superficie tumoral maligna. PSTM: Porcentaje de superficie tumoral maligna.

N: Tumores totales. STT: Superficie tumoral total. PSTT: Porcentaje de superficie tumoral total.

Negrita, cursiva *: Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

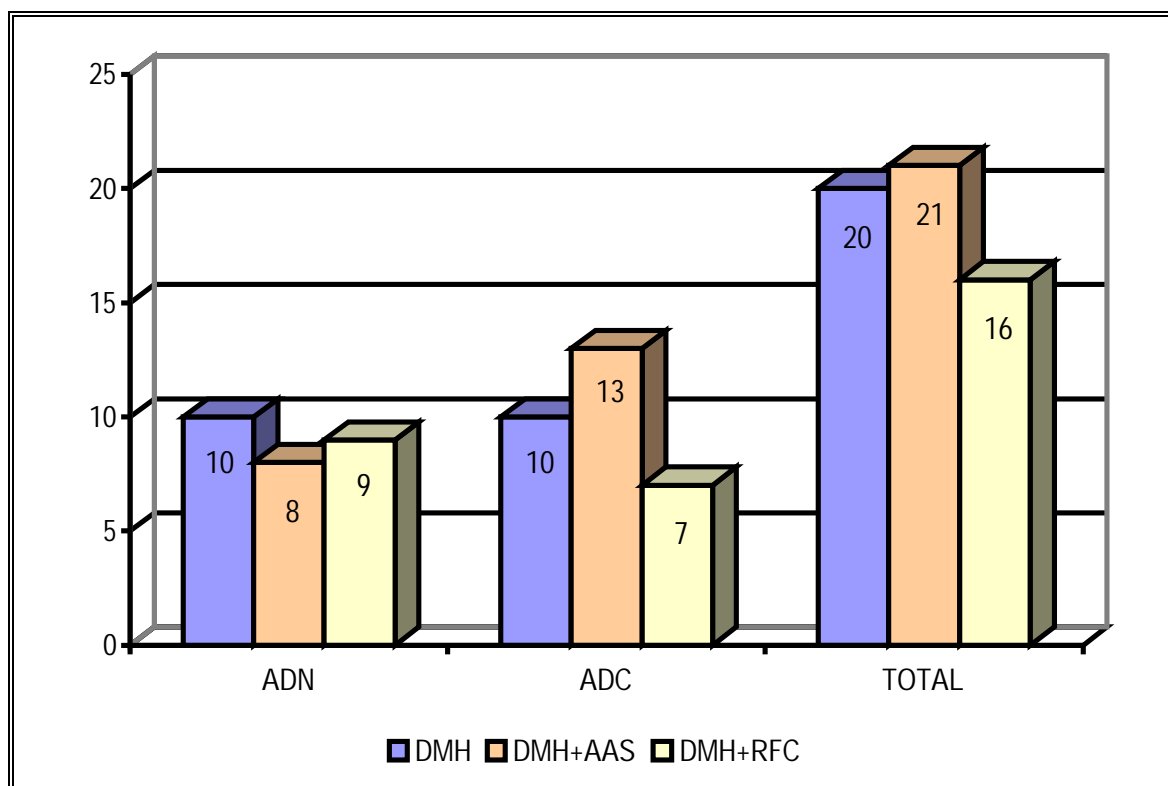
6.3.1. Número de tumores

Se hallaron un total de 57 tumores cólicos en los 30 animales estudiados, con una media de 1,9 tumores por animal. De estos 57 tumores, 30 fueron tumores malignos, adenocarcinomas (ADC), y 27 fueron benignos, adenomas (ADN). Estos 57 tumores fueron la “n” del presente estudio.

Por grupos, el que más tumores presentó fue el Grupo DMH + AAS (21 tumores) y el que menos el Grupo DMH + RFC (16 tumores en total). El número de ADN fue similar en los tres grupos, mientras que en los ADC sí hubo más discrepancias, con una reducción importante si se compara el Grupo DMH + AAS con el DMH + RFC (13 casos frente a 7).

Sin embargo, las diferencias entre los tres grupos en cuanto al número de tumores no resultaron significativas.

Figura 17: Número de tumores microscópicos.

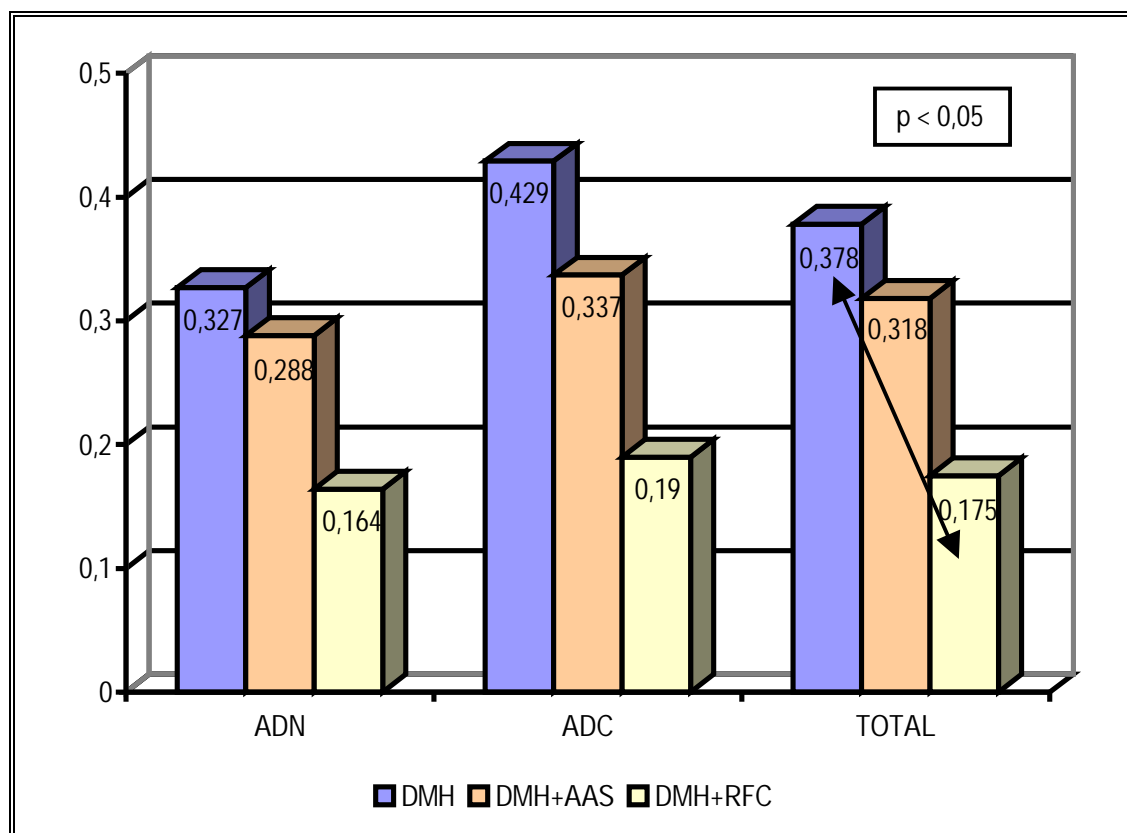


ADN: Adenomas. ADC: Adenocarcinomas.

6.3.2. Superficie tumoral microscópica

En el conjunto de los animales se obtuvieron 16,47 cm² de superficie cólica tumoral. De estos, 7,34 cm² correspondieron a tumores benignos y el resto, 9,13 cm², correspondieron a adenocarcinomas. La media de la superficie tumoral fue mayor en el grupo DMH que en los grupos DMH + AAS y DMH + RFC, tanto para todos los tumores considerados en conjunto, como para los adenomas y adenocarcinomas por separado. Las diferencias solo resultaron significativas entre los grupos DMH y DMH + RFC, cuando se analizaron todos los tumores en conjunto, benignos y malignos. Estas diferencias no resultaron significativas cuando se analizaron por separado los tumores benignos y malignos, así como tampoco lo fueron para el grupo DMH + AAS (Figura 18).

Figura 18: Superficie tumoral microscópica.



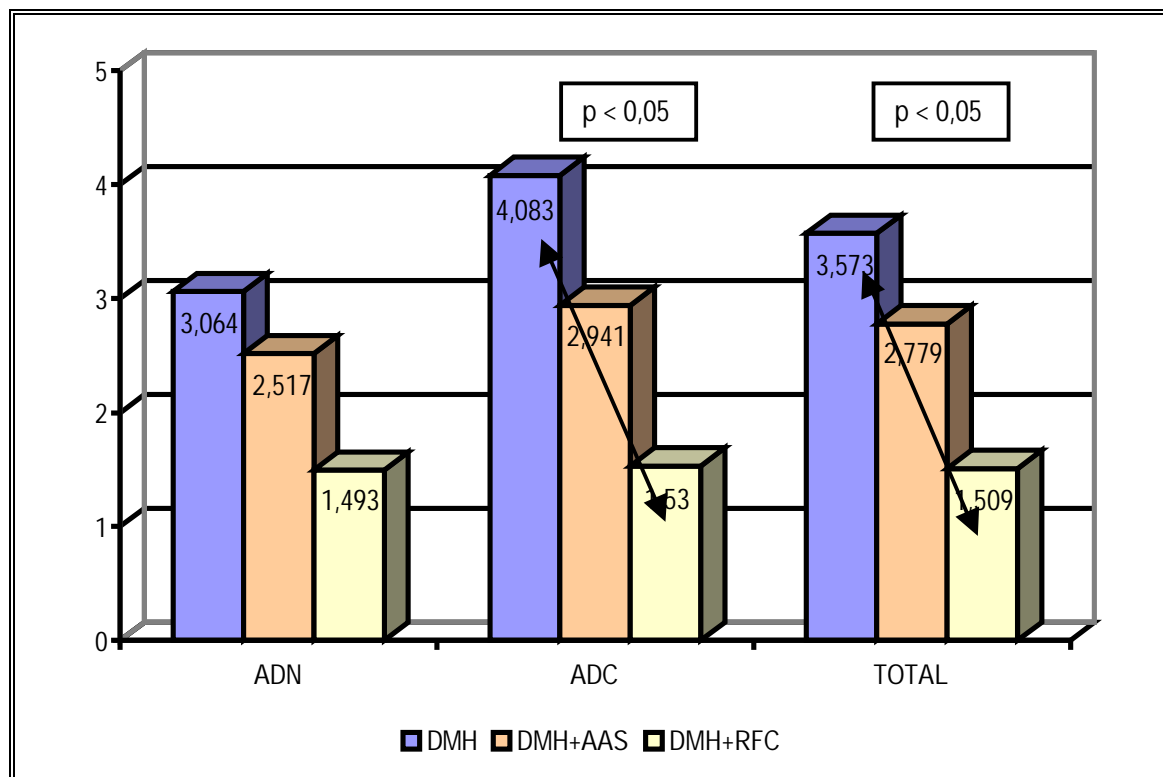
ADN: Adenomas. ADC: Adenocarcinomas.

6.3.3. Porcentaje de superficie tumoral microscópica

El porcentaje de superficie tumoral medio fue mayor en el Grupo DMH que en los restantes grupos. Considerando los AINE en conjunto, AAS y rofecoxib, y analizando todos los tumores, benignos y malignos, se apreció una reducción significativa en el porcentaje microscópico tumoral, respecto al Grupo DMH. Esta situación cambió cuando se consideraron los AINE por separado, AAS o rofecoxib, o cuando se analizaron por separado los tumores benignos o malignos. En el Grupo DMH + RFC se consiguió una reducción significativa en el porcentaje tumoral tanto en los tumores considerados en su conjunto como en los adenocarcinomas, si bien en los adenomas no se consiguió una reducción significativa. En el grupo DMH + AAS

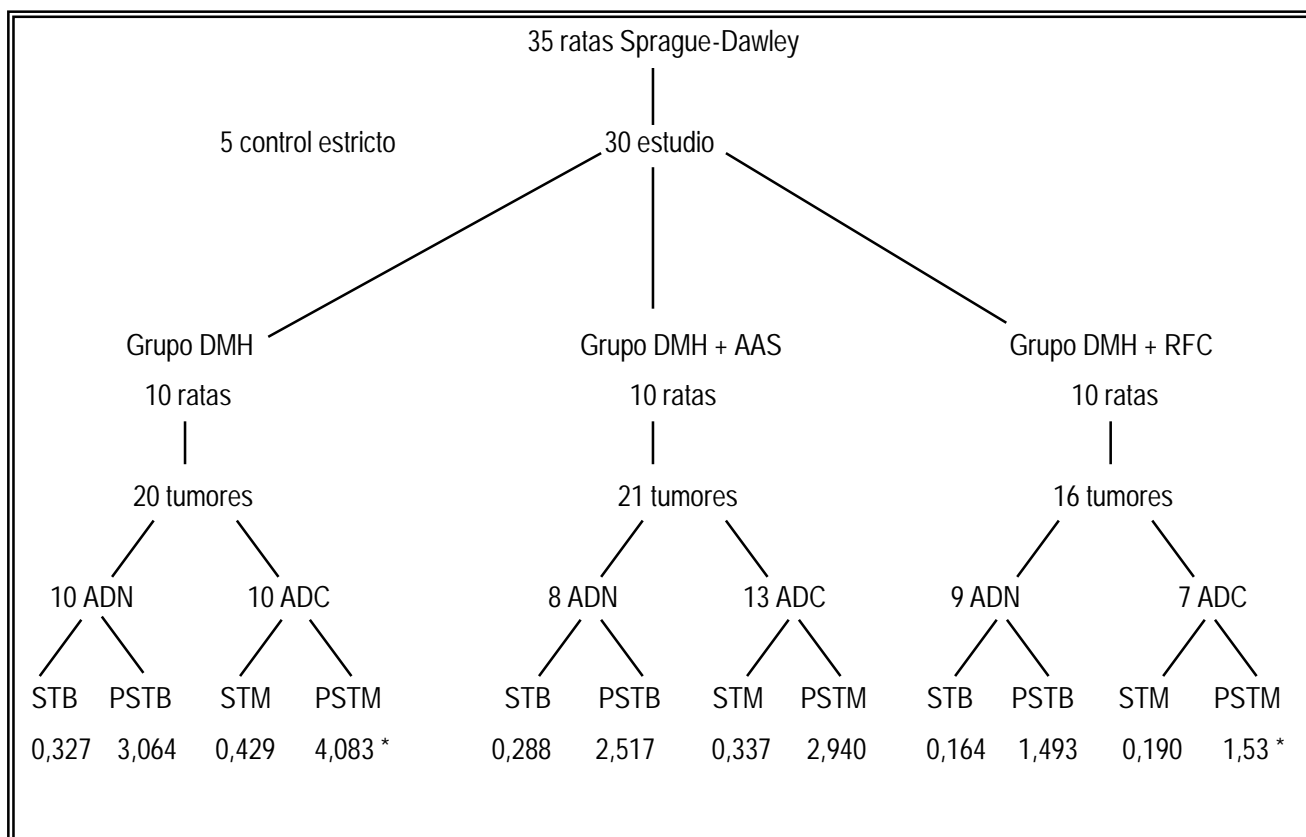
se produjo también una disminución en la carcinogénesis, pero sin valores significativos. Los resultados obtenidos en cuanto a este parámetro se pueden observar en la figura 19.

Figura 19: Porcentaje de superficie tumoral microscópica.



En la figura 20 se puede observar un esquema de los resultados del presente trabajo, a modo de resumen.

Figura 20: Esquema resumen de los resultados microscópicos.



ADN: Adenoma. STB: Superficie tumoral benigna. PSTB: Porcentaje de superficie tumoral benigna.

ADC: Adenocarcinoma. STM: Superficie tumoral maligna. PSTM: Porcentaje de superficie tumoral maligna.

Negrita, cursiva *: Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

6.3.4. Estudio histológico

Al realizar este estudio se encontraron varias situaciones: presencia de adenocarcinoma, presencia de adenoma, nodularidad cólica con mucosa normal, y presencia de hiperplasia linfoide en la pared cólica. La hiperplasia linfoide se encontró asociada a cualquiera de las situaciones anteriores. Los adenomas ($n=27$) representaron el 47,37% de los tumores inducidos, hallándose asociados a hiperplasia linfoide en 24 casos de los 27 (88,89%). Se

hallaron 30 adenocarcinomas, el 52,63% de los tumores inducidos, estando estas lesiones asociadas a hiperplasia linfoide en 20 de los 30 casos (66,66%).

Los adenocarcinomas fueron bien diferenciados en el 53,33% de los casos, moderadamente diferenciados en 16,67% y pobremente diferenciados en el 30% de los casos (Tabla XXII). En cuanto a su nivel de invasión, la mayoría alcanzaron la submucosa (53,33%), siendo in situ el 26,67% y siendo invasores más allá de la submucosa en el 16,66% (Tabla XXIII).

Se aislaron un total de 120 ganglios epicólicos (4 por rata), albergando micrometástasis por adenocarcinoma 7 de ellos (5,8%).

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos del estudio en cuanto a la asociación a hiperplasia linfoide, en la diferenciación de los adenocarcinomas, en el grado de invasión parietal de los adenocarcinomas, ni en la invasión de los ganglios epicólicos.

Tabla XXII: Grado de diferenciación celular de los adenocarcinomas.

GRADO	DMH	DMH + AAS	DMH + RFC	TOTAL
BD	3 (10%)	9 (30%)	4 (13,33%)	16 (53,33%)
MD	2 (6,67%)	2 (6,67%)	1 (3,33%)	5 (16,67%)
PD	5 (16,67%)	2 (6,67%)	2 (6,67%)	9 (30%)
TOTAL	10 (33,33%)	13 (43,33%)	7 (23,33%)	30 (100%)

BD: Bien diferenciados. MD: Moderadamente diferenciados. PD: Pobremente diferenciados.

Tabla XXIII: Nivel de invasión de los adenocarcinomas.

INVASIÓN	DMH	DMH + AAS	DMH + RFC	TOTAL
IN SITU	2 (6,67%)	4 (13,33%)	3 (10%)	9 (30%)
SUBMUCOSA	5 (16,67%)	8 (26,67%)	3 (10%)	16 (53,33%)
MUSCULAR	3 (10%)	1 (3,33%)	0 (0%)	4 (13,33%)
SUBSerosa	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,33%)	1 (3,33%)
TOTAL	10 (33,33%)	13 (43,33%)	7 (23,33%)	30 (100%)

6.3.5. Estudio inmunohistoquímico de la actividad COX-2

En el presente trabajo no se ha podido lograr una gradación de la intensidad de tinción (y por tanto de expresión) de la COX-2 en los tumores estudiados, de modo que sólo se ha podido identificar la expresión de COX-2 de forma cualitativa (existe o no existe).

Con todo, se ha estudiado la expresión de la COX-2 en el tejido tumoral y en el tejido normal peritumoral considerando por separado ambas expresiones según la naturaleza benigna o maligna de la expresión. Cuando se ha valorado la expresión de la COX-2 en el tejido tumoral de los adenomas y de los adenocarcinomas farmacológicamente inducidos se ha comprobado que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los animales del grupo DMH y los del grupo DMH + RFC.

Como resultado no esperado, se ha comprobado que la expresión de la COX-2 en el tejido normal peritumoral en los intestinos de las ratas del grupo DMH es significativamente menor que la de los grupos DMH + AAS y DMH + RFC.

Los resultados para las tumoraciones benignas se pueden observar en la figura 16 y los pertenecientes a las tumoraciones malignas se pueden apreciar en la figura 17. En las tablas XXIV y XXV se muestran los resultados de adenomas y adenocarcinomas por separado, y en la tablas XXVI y XXVII se muestran los resultados del análisis estadístico mediante la prueba Anova de dos colas; todas estas tablas están desarrolladas en el apartado “Apéndices”.

Figura 21: Expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

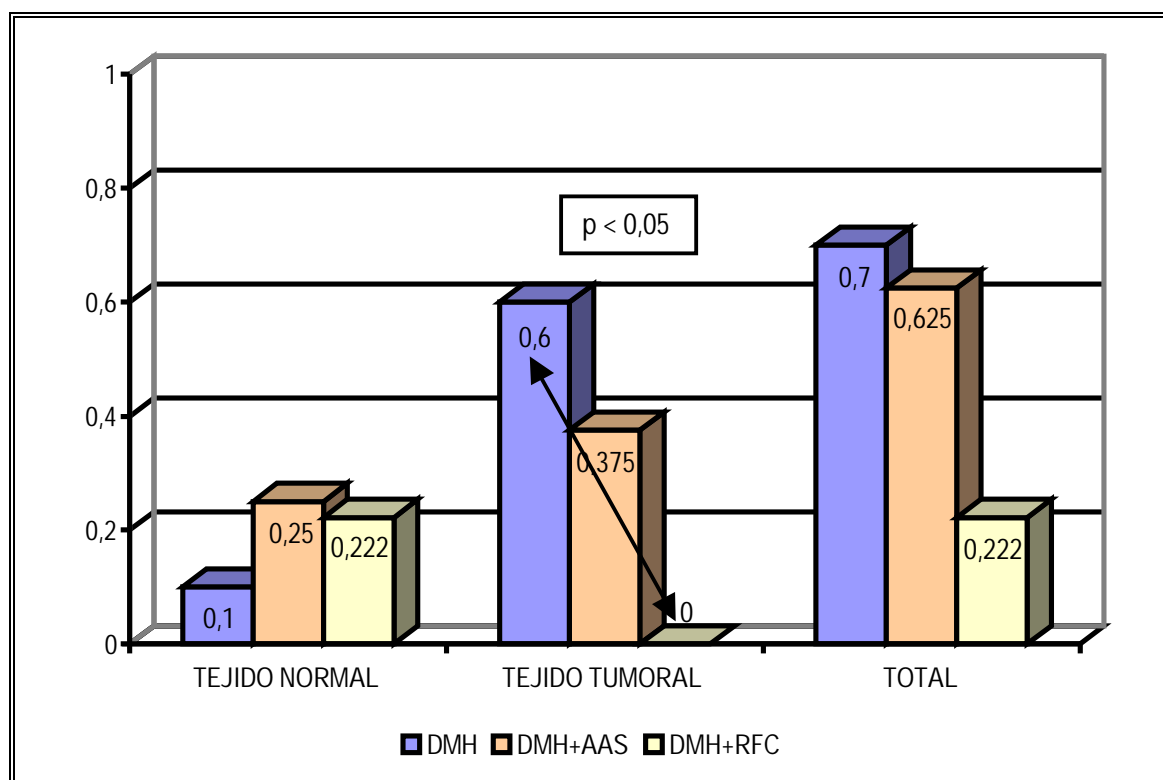
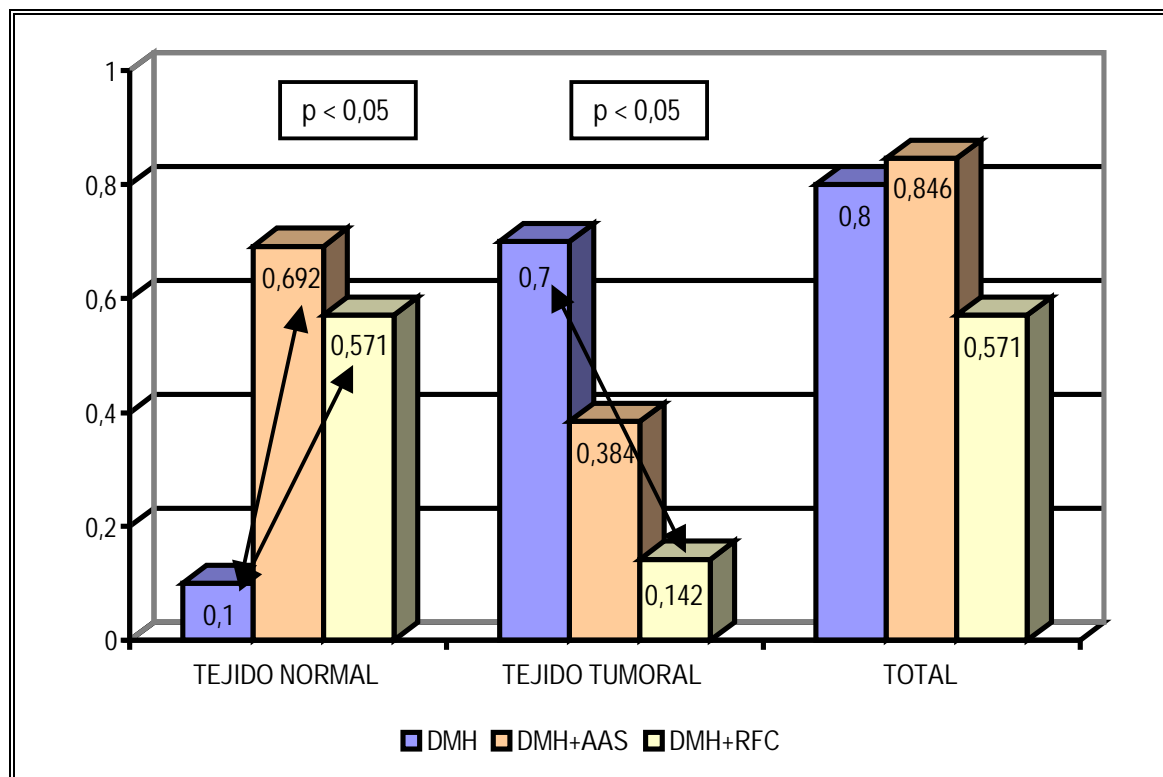


Figura 22: Expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.



Discusión

Desde que Kudo describiera, hace 25 años, la relación entre la administración de AAS y la menor incidencia de tumores colorrectales en ratas expuestas a un carcinógeno cólico (Kudo, 1980), han sido múltiples las aportaciones en modelos animales, estudios epidemiológicos y ensayos clínicos que apoyan un efecto quimiopreventivo de los AINE y los inhibidores selectivos de la COX-2 en los tumores colorrectales.

El presente trabajo queda enmarcado dentro de los estudios experimentales en ratas sometidas a carcinogénesis farmacológica, para lo cual se ha utilizado 1,2-DMH administrada por vía subcutánea. La pauta de administración ha sido semanal, durante un período de 18 semanas. Existen en la literatura muchas pautas para la administración de la 1,2-DMH, desde en dosis únicas hasta pautas semanales durante 52 semanas y desde la utilización de la vía peritoneal hasta la subcutánea (Sequeiro, 2000; Oliveira, 2001; Liu, 2001). En el presente trabajo se ha utilizado a dosis de 25 mg / Kg de peso, ajustadas por el peso de cada animal, vía subcutánea y semanalmente durante 18 semanas ya testada previamente por el grupo investigador (Noguera, 2002), puesto que es una pauta cómoda y eficaz. Con esta pauta se han conseguido un total de 1,9 tumores cólicos por animal, cantidad comparable a la que otros autores consiguieron con azoximetano (McGregor, 1991), y la dosis de 25 mg / Kg de peso del animal ha demostrado ser más eficaz que la de 20 mg / Kg utilizada por otros autores (Calderesi, 1984; Phillips, 1986).

Como fármacos moduladores de la carcinogénesis cólica inducida se han empleado un inhibidor no selectivo de la COX (AAS) a dosis de 30 mg / Kg de peso del animal / día, y un inhibidor selectivo de la COX-2 (rofecoxib) a razón de 3 mg / Kg / día. La forma de administrarlos ha sido diluida en el agua de bebida, se han administrado en un biberón de 600 ml por cada tres ratas, lo que ha permitido que se acaben el agua y consuman la dosis semanal correspondiente. Otra alternativa para la administración de la medicación podría haber sido mezclada con la dieta en forma de dietas especialmente preparadas a tal efecto, como han realizado otros autores (Reddy, 1993; Reddy, 1996; Samaha, 1997; Kawamori,

1998; Fukutake, 1998), pero finalmente se decidió no utilizarla porque retrasaba y encarecía el proceso.

Extrapolando las dosis de anti-inflamatorios usadas en el presente estudio para un adulto joven de 60 Kg de peso, el AAS, utilizado a razón de 30 mg/Kg / día, se habría administrado a dosis de 1800 mg diarios (es decir, dos comprimidos de 300 mg cada 8 horas), mientras que el rofecoxib, a la dosis de 3 mg / Kg / día, se habría administrado a dosis de 180 mg diarios (siete comprimidos de 25 mg diarios). Del mismo modo, la utilización de los AINE durante 20 semanas en la vida de una rata supondría un 20% de su vida, lo que extrapolado a la esperanza de vida actual de 80 años en el ser humano significaría tomar esas dosis de AINE durante un período de tiempo total de 16 años. Estas dosis utilizadas hubieran sido exageradamente elevadas en el ser humano, se hubieran acompañado de efectos adversos importantes, y con ellas sólo se ha demostrado un efecto moderado en la reducción del porcentaje de superficie tumoral microscópica maligna y total. Esto refleja el inconveniente principal de la quimioprevención incluso en poblaciones predispuestas a sufrir tumores colorrectales, que es la duración del tratamiento con dosis elevadas de AINE (*Benamouzig, 2002*). En base a lo anteriormente expuesto, las dosis que se deberían haber probado en los ensayos clínicos (*Becerra, 2003*) deberían haber sido superiores a las que se han empleando (entre 25 y 50 mg diarios de rofecoxib).

A pesar de utilizar estas dosis tan altas de AAS y de rofecoxib y durante un tiempo tan prolongado, no se apreciaron alteraciones significativas ni en cuanto a las características de las deposiciones (rectorragias, melenas, diarreas, oclusiones intestinales) ni en la mortalidad de los animales del estudio. Esto refleja la escasa morbilidad del tratamiento anti-inflamatorio en las ratas Sprague-Dawley empleadas en el estudio.

Los resultados macroscópicos no han sido valorables, puesto que la correlación entre los datos macroscópicos y los microscópicos ha sido pequeña excepto en el caso de los

adencarcinomas, y además se ha tenido tendencia a magnificar las superficies tumorales por confusión de la mucosa normal peritumoral como tumor macroscópico. Los datos microscópicos en cuanto al número de tumores, superficies tumorales benigna y maligna y porcentaje de superficie tumoral benigna no han arrojado resultados estadísticamente significativos entre los grupos estudiados. Los datos de superficie tumoral total y de porcentajes de superficies tumorales total y maligna han sido significativamente menores en las ratas del grupo DMH + RFC frente a los de las ratas del grupo DMH. Este resultado coincide con el estudio publicado por Oshima (*Oshima, 2001*). Los datos pertenecientes a los tumores de las ratas del grupo DMH + AAS no han sido estadísticamente diferentes de los de las ratas del grupo DMH en cualquier parámetro microscópico estudiado, aunque sí que existe cierta tendencia estadística a serlo. La explicación a este hecho podría encontrarse en que el tamaño muestral fuera pequeño para alcanzar una significación estadística con los datos disponibles (a pesar de considerarse los tumores, no las ratas). Sin embargo, lo único que pondría de manifiesto es el mayor poder de la inhibición selectiva de la COX-2 en la prevención de los tumores, puesto que con una muestra similar sí que existen diferencias estadísticamente significativas en parámetros clave de la cantidad de tumor entre los grupos DMH y DMH+RFC.

La actividad COX-2 se ha analizado con la tinción inmunohistoquímica de las muestras recogidas. Con ello se ha podido demostrar que la actividad COX-2 en el tejido tumoral de los adenomas de las ratas del grupo DMH + RFC es significativamente menor que la de las ratas del grupo DMH, aunque el porcentaje de superficie tumoral benigno entre los dos grupos fue igual. Sin embargo, la disminución de la actividad COX-2 en el tejido tumoral de los adenocarcinomas de las ratas del grupo DMH + RFC tuvo correlación con una disminución significativa del porcentaje de superficie tumoral maligna. Esto afianza la teoría ya descrita de la mayor importancia de la inhibición de la COX-2 como el mecanismo de acción de los coxibs en la prevención de los tumores colorrectales.

La elección del anticuerpo correcto para valorar la expresión de COX-2 en el colon de la rata OFA mediante técnicas de inmunohistoquímica fue un problema importante pues la falta de bibliografía en la determinación de la enzima en los tumores colorrectales de rata era completa. Se probaron de manera inicial dos anticuerpos anti-COX-2 que se habían mostrado eficaces en la determinación de la expresión enzimática en tejido colorrectal en humanos: el anticuerpo NCL-COX-2 (de Novocastra Laboratorios, UK) y el anticuerpo sc-1746 ó Cox-2-(N-20), (de Santa Cruz Biotechnology, USA). El anticuerpo NCL-COX-2 clon 4H12 fue testado inicialmente, apareciendo una tinción nuclear en el epitelio de los adenocarcinomas cólicos en la rata, aunque en el tejido control, de colitis ulcerosa en humano, presentaba una tinción citoplásmica, patrón característico de expresión. Este anticuerpo no mostró una tinción adecuada en el tejido cólico normal ni neoplásico de la rata, a pesar de modificar las diluciones y repetir la técnica en máquinas Dako ® distintas. Al cambiar el anticuerpo y emplear el sc-1746, Cox-2 (N-20), se obtuvo una tinción satisfactoria, citoplásmica, localizada en estroma y epitelio del tejido cólico normal y neoplásico. Esta afinidad por la enzima COX-2 en el colon de la rata OFA deriva de su producción; anticuerpo policlonal de cabra obtenido frente al grupo amino terminal de la COX-2 de rata, que difiere de la secuencia humana en dos aminoácidos.

Existen parámetros diferenciadores del presente estudio con respecto a trabajos similares previos, lo que hace que sea un trabajo original: la existencia de un grupo tratado con AAS, medir y comparar los parámetros en referencia a los tumores, y la importancia de medir no sólo el número de tumores sino también la superficie tumoral y el porcentaje de superficie tumoral.

En el presente trabajo han existido un grupo de carcinogénesis con 1,2-DMH y grupos de frenación de la carcinogénesis mediante la inhibición no selectiva de la COX (grupo DMH + AAS) y con la inhibición selectiva de la COX-2 (grupo DMH + RFC). La mayoría de estudios sobre modelos animales sólo investigan el efecto quimiopreventivo de un fármaco o acción

(AAS, coxibs u otros AINE) frente a un grupo de carcinogénesis inducida, de modo que sólo permiten conocer si una sustancia es eficaz o no en la quimioprevención de los tumores cólicos, sin conocer si en condiciones similares de experimentación es más eficaz que otra (Reddy, 1993; Kawamori, 1998; Yoshimi, 1999; Reddy, 2000-B; Yamada, 2001). El hecho de tener los tres grupos ha permitido comparar la eficacia de utilizar un inhibidor no selectivo de la COX-2 frente a un inhibidor selectivo y objetivar que la eficacia de la quimioprevención es mayor empleando el inhibidor selectivo de la COX-2.

Siguiendo las recomendaciones del Real Decreto 23/1988, y de la Directiva Europea 86/609/CEE, respecto a la protección de los animales usados en experimentación y otros fines científicos, se ha minimizado el número de animales empleados en el experimento, gracias a los resultados previos obtenidos con el diseño del modelo experimental y con otros estudios sobre carcinogénesis cólica en ratas. Todos los parámetros tumorales microscópicos se han analizado por cada tumor, independientemente del número de ratas utilizado. Esto ha hecho que, a pesar de no utilizarse una gran cantidad de ratas, la cantidad total de tumores sí que permite que los resultados obtenidos tengan un poder estadístico adecuado. Los estudios revisados dan importancia a tener una cantidad importante de animales de experimentación en cada grupo (entre 20 y 48 ratas por grupo de experimentación) (Yoshimi, 1999; Kawamori, 1998; Reddy, 2000-B; Reddy, 1993), ya que comparan los resultados por animales no por tumores, lo que hace que los resultados sean poco extrapolables a otros estudios. Sin embargo existen algunos estudios que utilizan un número de animales por grupo de experimentación similar al utilizado en el presente trabajo (alrededor de 10 animales / grupo) y que demuestran el efecto quimiopreventivo de los AINE (Yoshimi, 1997; Yamada, 2001; Brown, 2001).

El tercer hecho diferenciador del presente trabajo es el modo de realizar las comparaciones de la cantidad de tumor. Por experiencias previas del grupo experimentador (Noguera, 2000), se conocía la importancia de tener en cuenta parámetros como la superficie tumoral y

el porcentaje de superficie tumoral como marcadores de la cantidad de tumor formado y evitado. Cuando no se hace referencia a criptas aberrantes o focos displásicos sino a tumores cólicos inducidos, se debería evaluar el porcentaje de superficie tumoral microscópico, dado que es el único parámetro que relaciona la cantidad de tejido tumoral con la magnitud del colon estudiado. Este parámetro ha resultado especialmente importante al existir en el estudio un grupo con animales con un mayor peso (los del grupo DMH + AAS) y un grupo con los intestinos gruesos más grandes (los del grupo DMH + RFC), hechos que podrían haber supuesto un sesgo en el presente trabajo. Sin embargo, el hecho de utilizar parámetros de superficie de tumor y sobre todo relacionar la superficie de cada tumor con la superficie de su colon ha hecho que lo importante haya sido la cantidad de tumor y la cantidad de colon que alberga ese tumor, y se ha eliminado el hecho de que en un colon pequeño se albergaran tumores más pequeños que en un colon más grande. Por ello, el parámetro al que se le ha dado más importancia en el presente trabajo ha sido al que relaciona la cantidad de tumor con la cantidad de colon, el porcentaje de superficie tumoral, como marcador más fidedigno de la cantidad de tumor. La principal contraindicación para la utilización de este parámetro sería la existencia de situaciones de oclusión aguda o crónica, completa o parcial al tránsito cólico, pues originan un aumento del diámetro del colon que condicionaría alteraciones en la medición del porcentaje; este hecho no ha existido en el actual estudio. No se han encontrado artículos que expresen la cantidad de tumor de acuerdo a estos parámetros, lo que hace del presente trabajo un estudio singular. Sí que se han encontrado trabajos que, a raíz de estudios previos del grupo investigador (*Noguera, 2004*), han reconocido la importancia de la utilización del porcentaje de superficie tumoral (*Taxonera, 2004*).

Las limitaciones más importantes del estudio podrían ser que los grupos no son estrictamente comparables entre sí y que el número de ratas utilizado no ha sido muy amplio. Efectivamente, los grupos no son estrictamente comparables. Obviamente sí lo son en cuanto al sexo de los animales de experimentación pues todos fueron machos, pero

existe una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al peso, y por tanto a la edad, a favor de los animales del grupo tratado con AAS. Además el número de tumores en los animales de este grupo es mayor que en el resto, aunque sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas. Esto podría explicarse por una mayor tendencia de estas ratas más mayores a presentar tumores colorrectales espontáneos. Sin embargo, en el estudio existe un grupo control estricto en el cual no se ha desarrollado ningún tumor espontáneamente estando en iguales condiciones ambientales y dietéticas, lo cual contradice esta teoría. Además, ningún parámetro estudiado presenta diferencias significativas entre los tumores de las ratas tratadas con AAS y los tumores de los otros grupos. Otro efecto del mayor peso de las ratas del grupo DMH + AAS podría ser que sus intestinos gruesos también fueran mayores y que los tumores en ellos desarrollados fueran mayores. Pues bien, los colones de las ratas del grupo DMH + AAS no fueron los más grandes, sino que lo fueron los del grupo DMH+RFC, y además para valorar la cantidad de tumor se utilizó como variable más fidedigna el porcentaje de superficie tumoral de cada tumor con respecto a su colon. La segunda limitación se refiere al tamaño muestral del presente trabajo. Si se atiende exclusivamente al número de ratas utilizadas, las muestras podrían considerarse pequeñas. Sin embargo, los parámetros que se han comparado han sido parámetros microscópicos de cada tumor con respecto a su colon. Es decir, el estudio se ha realizado comparando no 30 ratas sino 57 tumores, cantidad más que suficiente para alcanzar conclusiones aceptables desde un punto de vista estadístico. Se utilizaron sólo 30 ratas ya que por estudios previos del grupo investigador (*Noguera, 2000*) se conocía el poder de la 1,2-DMH y la capacidad para generar alrededor de 2 tumores por rata a las dosis de carcinógeno utilizadas.

Durante el estudio se han producido dos resultados no esperados de acuerdo con la bibliografía consultada. El primero de ellos fue la aparición de hiperplasia linfoide de forma aislada o asociada a prácticamente cualquier situación (tejido tumoral de adenomas y adenocarcinomas, tejido normal). La hiperplasia linfoide, descrita como un acúmulo de

linfocitos en el estroma, se asoció a cualquiera de las situaciones encontradas y no se puede saber el motivo por ausencia de datos en la bibliografía. Se esgrime que podría tratarse de una reacción frente al carcinógeno utilizado (1,2 – DMH), o bien que se pudiera tratar de un mecanismo defensivo antitumoral característico de las ratas OFA, aunque ninguna de las dos hipótesis ha sido corroborada en la bibliografía. El segundo resultado no esperado fue que la expresión de la actividad COX-2 en el tejido normal peritumoral de los animales del grupo DMH fue significativamente menor que la de los tumores de los grupos DMH + AAS y DMH + RFC; no se conoce la explicación a este hecho pero se esgrime que la inhibición de la COX-2 podría tener preferencia por los tejidos con un recambio rápido, es decir, por el tejido tumoral. Sin embargo, las explicaciones a estos dos resultados son meras conjeturas, a las que no se puede dar una respuesta cierta y sobre las que se van a basar nuevos estudios del grupo investigador.

La sustancia quimiopreventiva ideal debe cumplir los siguientes requisitos: demostrar su eficacia en la quimioprevención del CCR en estudios experimentales sobre modelos animales y en ensayos clínicos en seres humanos, ser una sustancia segura y tener una alta eficiencia (una elevada eficacia con costes aceptables para el sistema sanitario) (*Benamouzig, 2002*).

El primer requisito está claro. Según los datos aportados en los apartados “Fundamentos” y “Resultados”, ha quedado ampliamente demostrado que la inhibición de la actividad COX-2 en modelos animales (incluido el presente trabajo) y la inhibición de la actividad COX (1 y 2) en seres humanos (estudios epidemiológicos y ensayos clínicos) suponen una actuación eficaz en la prevención de tumores colorrectales.

El segundo requisito (la seguridad de la sustancia utilizada) es quizás el punto más conflictivo. El presente trabajo se realizó utilizando rofecoxib como inhibidor selectivo de la COX-2 y este fármaco fue retirado del mercado por MSD de forma voluntaria el pasado 30

de septiembre de 2004. La causa de la retirada del fármaco fue la detección de una elevada toxicidad cardiovascular del rofecoxib en el estudio APPROVe (*A*denomatous *P*olyp *P*revention *O*n *V*IOXX) (Bresalier, 2005). El estudio APPROVe es un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo y diseñado para conocer la eficacia de la administración de rofecoxib a dosis de 25 mg diarios en la prevención de la recurrencia de pólipos colorrectales en pacientes con antecedentes de adenomas colorrectales. El estudio inició el reclutamiento de pacientes en el año 2000 y se inscribieron un total de 2.600 pacientes. El estudio fue finalizado prematuramente porque se apreció un aumento del riesgo relativo de sufrir acontecimientos cardiovasculares adversos confirmados (IAM o ictus) a partir de los 18 meses de tratamiento en los pacientes que tomaban rofecoxib frente a los pacientes que tomaban placebo. Los resultados de los primeros 18 meses del estudio no mostraron un aumento del riesgo de acontecimientos cardiovasculares (Merck & Co. Inc., 2004-A).

A pesar de ser el desencadenante de la retirada del fármaco, ya existían evidencias científicas de la toxicidad cardiovascular de los inhibidores selectivos de la COX-2 en general y del rofecoxib en particular. Así, el propio estudio VIGOR (Bombardier, 2000) ya detectó un aumento significativo de la tasa de IAM en el grupo tratado con rofecoxib (la incidencia de IAM fue del 0,4% en los pacientes tratados con rofecoxib frente al 0,1% de los tratados con naproxeno ($p < 0,01$)), aunque la mortalidad cardiovascular no mostró diferencias estadísticamente significativas (fue del 0,2% en ambos subgrupos); la explicación a estos resultados no fue una supuesta toxicidad intrínseca del rofecoxib sino un efecto cardioprotector del naproxeno, de la magnitud de la AAS y corroborado por estudios posteriores (Rahme, 2002; Watson, 2002).

Un reciente trabajo hace una actualización del problema tras la citada retirada del fármaco (Jüni, 2004). Realizó un metanálisis acumulativo que incluyó todos los ensayos clínicos realizados en pacientes con patologías músculo-esqueléticas crónicas que compararon

rofecoxib con placebo u otros AINE, en los que se hiciera referencia específica del riesgo cardiovascular, e indexados en el Registro de Ensayos Clínicos de la Biblioteca Cochrane, o en las bases bibliográficas MEDLINE, EMBASE y CINAHL. Así, seleccionó 18 ensayos que cumplieron los requisitos previos (*Ehrich, 1999; Laine, 1999; Schnitzer, 1999; Bombardier, 2000; Cannon, 2000; Day, 2000; Hawkey, 2000; Saag, 2000; Ehrich, 2001; Geba, 2001; Truitt, 2001-A; Truitt, 2001-B; Geusens, 2002; Hawkey, 2003; Lisse, 2003; Katz, 2004; Kivitz, 2004*), todos ellos patrocinados por MSD. Los 18 estudios incluyeron un total de 25.273 pacientes. El parámetro de evaluación primario fue la tasa de incidencia de IAM mortal o no mortal; el parámetro de evaluación secundario fue la tasa de incidencia de ictus mortal o no mortal (isquémico o hemorrágico), la tasa de mortalidad cardiovascular (incluida la de causa desconocida), y la tasa combinada de incidencia de acontecimientos cardiovasculares graves ya descrita en el estudio APTC (*Anti-Platelet Trialists' Collaborators, 1994*), que incluye las tasas de incidencia de IAM no mortal, ictus no mortal, y muerte de causa vascular o de causa desconocida. En cuanto a la evaluación del parámetro primario, se produjeron 64 IAM, 52 en los grupos con rofecoxib y 12 en los grupos control (placebo o AINE), con un RR de 2,24 (IC95%: 1,24-4,02) y esta diferencia llegó a hacerse evidente a finales del año 2000 cuando habían incluidos 20.742 pacientes y se habían producido 52 IAM. En cuanto a los parámetros secundarios, se produjeron un total de 44 ictus, 25 en los grupos con rofecoxib y 19 en los grupos control (RR: 1,02; IC95%: 0,54-1,93), sin diferencias significativas; se produjeron 31 fallecimientos de causa cardiovascular, 18 en los grupos con rofecoxib y 13 en los grupos control (RR: 0,79; IC95%: 0,29-2,19), sin diferencias significativas; y hubieron un total de 123 acontecimientos cardiovasculares graves, 85 en los grupos con rofecoxib y 38 en los grupos control (RR: 1,55; IC95%: 1,05-2,29). Con todos estos datos, el trabajo concluye que el fármaco ya había demostrado ampliamente su toxicidad cardiovascular antes de su retirada del mercado y que ésta debería haberse llevado a cabo varios años antes. También pone de manifiesto las discrepancias que existen entre los datos publicados y los remitidos a la FDA, con datos más “benignos” en los trabajos publicados (por ejemplo, en el estudio VIGOR los datos publicados indicaron un aumento del riesgo de sufrir IAM de 4

veces más en los pacientes que tomaban rofecoxib frente a los que tomaban naproxeno, mientras que los datos de la FDA indican un aumento de 5 veces el riesgo de IAM).

Este trabajo tuvo réplica inmediata por parte del director de MSD, quien en una carta abierta en la página web de la compañía rebate los datos y las conclusiones del trabajo de Jüni (*Merck & Co. Inc., 2004-B; Merck & Co. Inc., 2004-C; Merck & Co. Inc., 2004-D*). En todas estas referencias, se hace una crítica sobre el mencionado trabajo insistiendo en que la forma de realizar el metanálisis por parte de Jüni y colaboradores no fue lo más estadísticamente correcta por englobar los resultados de los grupos tratados con placebo, los tratados con AINE diferentes a naproxeno y los tratados con naproxeno en un mismo grupo (grupo control). Además aportan revisiones similares realizadas con anterioridad al trabajo de Jüni (*Konstam, 2001; Reicin, 2002; Weir, 2003*) en las cuales los resultados cardiovasculares de los pacientes tratados con rofecoxib frente a los tratados con placebo o AINE diferentes a naproxeno no presentan diferencias estadísticamente significativas, aunque sí las presentan al comparar los grupos tratados con rofecoxib frente a los grupos tratados con naproxeno, que son las mismas conclusiones que se extrajeron del estudio VIGOR (*Bombardier, 2000*). De igual modo, aportan los datos en cuanto a seguridad cardiovascular de dos grandes estudios realizados con rofecoxib frente a placebo para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (*Aisen, 2003; Reines, 2004*), en los cuales el riesgo cardiovascular de ambos grupos es similar. El estudio APPROVe es el primero que demostró el incremento de acontecimientos cardiovasculares confirmados en los pacientes tratados con rofecoxib a dosis de 50 mg diarios frente a placebo a partir de los 18 meses de tratamiento, y ese fue el motivo de la retirada voluntaria del fármaco del mercado mundial por la propia compañía MSD.

En el actual trabajo, se ha estudiado el efecto de inhibir la COX-2 sobre la cantidad de tumor colorrectal inducido utilizando rofecoxib como inhibidor selectivo de la COX-2 ya que en el momento del desarrollo del trabajo no había constancia oficial de estos efectos

cardiovasculares y además era el inhibidor selectivo de la COX-2 más potente desarrollado hasta ese momento, con lo que los efectos deberían de ser mayores con este fármaco que con otros de su grupo. Este hecho era compartido con la propia compañía Merck, que desarrolló el citado estudio APPROVe y otros estudios en los que pretendía conocer el efecto quimiopreventivo del rofecoxib frente a adenomas colorrectales o frente al CCR (como el estudio VICTOR: *VIOXX in Colorectal Cancer Therapy: definition of Optimal Therapy*). El fármaco no fue retirado del mercado por su ineficacia en la quimioprevención de estos tumores colorrectales (aunque todavía no se han publicado los resultados del estudio APPROVe), sino por la toxicidad cardiovascular del fármaco. El presente trabajo y otros realizados en modelos animales y en seres humanos, previamente referenciados y analizados, refrendan el poder quimiopreventivo de la inhibición selectiva de la COX-2. Queda por conocer si este efecto adverso es del fármaco individual o es un efecto adverso de grupo (de todos los inhibidores de la COX-2) y no abandonar la línea de investigación abierta, incluso ampliándola a otras indicaciones con peor historia natural que la prevención de una patología benigna (por ejemplo, estudiar los efectos quimiopreventivos de la inhibición selectiva de la COX-2 en los CCR avanzados, con el fármaco con más potencia para inhibir la COX-2 y que presente menor toxicidad cardiovascular). Hasta que no se demuestre un efecto directo entre la inhibición selectiva de la COX-2 y la incidencia de acontecimientos cardiovasculares, deberían continuar los estudios que se vienen realizando hasta la fecha para completar el perfil de seguridad del fármaco y su poder a la hora de inhibir la carcinogénesis cólica.

Sobre de si se trata de una reacción adversa de un fármaco determinado o de un grupo de fármacos, cada vez existen más datos que apoyan que el celecoxib y los coxibs de segunda generación (fundamentalmente parecoxib - valdecoxib) también podrían presentar toxicidad cardiovascular.

Los estudios previos que utilizaron celecoxib indicaron que se trata de una molécula que no presenta los efectos cardiovasculares del rofecoxib. En el estudio CLASS (*Silverstone, 2000*) se observó una incidencia de IAM del 0,5% de los pacientes tratados con celecoxib, el 0,3% con diclofenaco y el 0,5% con ibuprofeno (diferencias no significativas). White (*White, 2003*) publicó un metanálisis, patrocinado por Pharmacia (la empresa que fabrica celecoxib), en el cual se recogieron los datos de efectos adversos cardiovasculares de todos los ensayos clínicos completados realizados en pacientes con artritis reumatoide o artrosis y tratados con celecoxib durante al menos 4 semanas, frente a AINE o placebo. El parámetro de evaluación primario fue conocer la incidencia de acontecimientos cardiovasculares graves del estudio APTC (muerte cardiovascular y desconocida, IAM no mortal e ictus no mortal). El parámetro de evaluación secundario fue la incidencia de angor que requiriese hospitalización, necesidad de revascularización coronaria, tromboembolismo pulmonar, trombosis venosa profunda, accidentes isquémicos transitorios, trombosis arterial en extremidades e isquemia que requiriese hospitalización o atención urgente en el hospital. Un 10% de los pacientes incluidos fueron consumidores de AAS a dosis cardioprotectoras (entre 81 y 325 mg diarios). El trabajo incluyó 31.879 pacientes, 18.942 tratados con celecoxib, 12.937 tratados con AINE (6.542 con diclofenaco, 2.330 con ibuprofeno y 2.271 con naproxeno) y 1.794 con placebo; las características de los pacientes asignados a cada grupo (edad, sexo y factores de riesgo cardiovascular) fueron comparables. En cuanto al parámetro primario, no existieron diferencias estadísticamente significativas al comparar celecoxib con placebo (RR: 0,85; IC95%: 0,23-3,15), con AINE (RR: 1,06; IC 95%: 0,70-1,61) o con naproxeno (RR: 0,85; IC95%: 0,29-2,46) para todos los pacientes y diferenciando entre consumidores o no de AAS. En cuanto al parámetro secundario, tampoco hubieron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes tratados con celecoxib y con AINE o placebo, tanto en los pacientes totales como en los no consumidores de AAS. El estudio concluye que no existe evidencia de incremento del riesgo cardiovascular en pacientes que tomen celecoxib frente a AINE o placebo.

Estudios similares publicados posteriormente refrendan la ausencia de toxicidad cardiovascular del celecoxib tanto en la incidencia de IAM como en la de insuficiencia cardiaca congestiva (Mamdani, 2004). Sin embargo, la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) ha lanzado una alerta con fecha 20 de diciembre de 2004 en la que se informa de la suspensión del estudio APC (*Adenoma Prevention with Celecoxib*) por parte del comité de seguridad del ensayo clínico por la detección de un incremento significativo de la incidencia de acontecimientos cardiovasculares (IAM, ictus o muerte) en los pacientes tratados con celecoxib respecto a placebo (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, 2004 – A). En el ensayo APC (Solomon, 2005) se incluyeron un total de 2.400 pacientes a los que se había seguido una media de 33 meses. Los pacientes asignados al grupo celecoxib recibieron una dosis diaria de entre 400 y 800 mg. El Comité de Seguimiento de la Seguridad del ensayo decidió su suspensión cuando detectó que el riesgo de sufrir acontecimientos cardiovasculares graves en los pacientes que recibieron celecoxib a dosis de 800 mg diarios fue 3,4 veces superior a los que recibieron placebo (IC95%: 1,4-8,3), mientras que el riesgo de los pacientes que recibieron celecoxib a dosis de 400 mg diarios fue 2,5 veces superior a los pacientes que recibieron placebo (IC95%: 1-6,3). La compañía Pharmacia informó a la AEMPS el día 17 de diciembre de 2004. Basándose en los resultados remitidos de este trabajo, la AEMPS recomienda el uso de celecoxib a dosis no superiores a 400 mg diarios y en pacientes sin riesgo cardiovascular aumentado. En la misma alerta se informa de que existe otro ensayo en marcha, el PreSAP (*Prevention of Spontaneous Adenoma Polyps*), en el que no se ha comunicado un incremento del riesgo cardiovascular.

Los coxibs de segunda generación no suponen una excepción a este efecto. Aunque lumiracoxib no parece presentar estos efectos, sí se han informado con parecoxib y valdecoxib. En el tercer trimestre de 2004 se publicaron los resultados del estudio TARGET (*Therapeutic Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial*) (Farkouh, 2004), que investiga la seguridad gastrointestinal y cardiovascular del lumiracoxib frente a naproxeno e

ibuprofeno. El ensayo clínico incluyó 18.000 pacientes con artrosis que fueron tratados con lumiracoxib a dosis de 400 mg diarios (el doble de la dosis máxima recomendada), naproxeno 500 mg cada 12 horas o ibuprofeno 800 mg cada 8 horas. El ensayo carece de un grupo control estricto tratado con placebo. Aproximadamente el 25% de los pacientes incluidos fueron consumidores de AAS a dosis cardioprotectoras (75 a 100 mg diarios) durante al menos 3 meses antes de su inclusión en el ensayo. El seguimiento de los pacientes fue de 52 semanas. El objetivo primario fue conocer la incidencia de UGD complicadas en cada grupo, y el objetivo secundario fue conocer y comparar las tasas de incidencia de acontecimientos cardiovasculares graves definidos en el estudio APTC. La incidencia de acontecimientos cardiovasculares fue similar al comparar lumiracoxib con AINE (RR: 1,14; IC95%: 0,78-1,66), lumiracoxib con ibuprofeno (RR: 0,76; IC95%: 0,41-1,40) y lumiracoxib con naproxeno (RR: 1,46; IC95%: 0,89-2,37), tanto al comparar a todos los pacientes como al diferenciarlos entre los consumidores habituales o no de AAS. Lo mismo ocurrió al desglosar los componentes individuales de los acontecimientos cardiovasculares graves (IAM no mortal, ictus no mortal y muerte) para todos los grupos independientemente del consumo regular o no de AAS. El único parámetro en el que se apreció un beneficio significativo en los pacientes tratados con lumiracoxib fue en el control de la presión arterial tanto sistólica como diastólica. El estudio concluye que lumiracoxib es un tratamiento seguro para pacientes con artrosis, incluso para aquellos que presentan elevado riesgo cardiovascular y consumen habitualmente AAS a dosis cardioprotectoras.

No ocurre lo mismo con parecoxib, ya que la AEMPS en una nota informativa del 27 de diciembre de 2004, y de acuerdo con la Agencia Europea del Medicamento (EMA), ha contraindicado el uso de parecoxib en el tratamiento del dolor postoperatorio en pacientes sometidos a cirugía de derivación aorto-coronaria (*Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, 2004 – B*). Estas conclusiones se extraen tras valorar los resultados de dos ensayos clínicos. El primero (*Ott, 2003*) evaluó la seguridad de parecoxib endovenoso a dosis de 40 mg cada 12 horas durante tres días seguido de valdecoxib oral a

dosis de 40 mg cada 12 horas durante 11 días, comparado con placebo durante 14 días, en 462 pacientes. El segundo ensayo (*Nussmeier, 2005*) tuvo tres ramas: una de tratamiento con parecoxib endovenoso a dosis de 40 mg cada 12 horas durante dos días seguido de valdecoxib oral a dosis de 20 mg cada 12 horas durante ocho días, otra en la que se utilizó placebo intravenoso durante dos días seguido de valdecoxib en la misma pauta que anteriormente y una tercera rama que incluyó los pacientes tratados con placebo endovenoso seguido de placebo oral, en un total de 1.671 pacientes. En ambos estudios se observó una mayor incidencia de acontecimientos cardiovasculares graves en las ramas de tratamiento con parecoxib-valdecoxib en comparación con los pacientes tratados con placebo. Este hallazgo no se ha observado por el momento en otros tipos de cirugía.

A la luz de los resultados de estos estudios, en febrero de 2005 se reunió un comité de expertos (concretamente se reunieron 32 miembros de los *FDA's Arthritis and Drug Safety and Risk Management Committees*) para discutir si existían suficientes evidencias científicas de la toxicidad cardiovascular de los coxibs y votar sobre la conveniencia o no de mantener estos fármacos en el mercado (*Young, 2005*). Llegaron a la conclusión de que la toxicidad cardiovascular es un efecto de grupo, que se produce directamente por un efecto mediado por la inhibición de la COX-2 y que este efecto es dependiente de la dosis a la que se utilice la droga (excepto en el caso de rofecoxib, en el que no se ha identificado una dosis segura). De acuerdo con esta conclusión, el comité votó a favor del mantenimiento en el mercado de celecoxib (por 31 votos a 1) y de valdecoxib (por 17 votos a 13 y dos abstenciones) y a favor de la reintroducción en el mercado de rofecoxib (por 17 votos a 15). Sin embargo, 10 miembros del comité tenían conflictos de intereses que impedían una votación objetiva, y se excluyeron de la misma. Este hecho cambió el signo de la votación, de modo que se acordó que valdecoxib debería ser retirado del mercado (por 12 votos a 8, con dos abstenciones) y que rofecoxib debía continuar fuera del mercado farmacéutico (por 14 votos a 8); la decisión sobre celecoxib no varió.

A pesar de las recomendaciones de retirar valdecoxib del mercado, esta retirada no se ha hecho efectiva hasta el pasado siete de abril de 2005 (*EMEA, 2005*) y el motivo de la retirada ha sido por detectarse una tasa elevada de acontecimientos cutáneos graves (necrolisis epidérmica tóxica, síndrome de Steven-Johnson) en pacientes consumidores de valdecoxib.

Es decir, los efectos tóxicos cardiovasculares objetivados con rofecoxib se están relacionando también con los otros coxibs y, de alguna manera, estos fármacos están ya envueltos en la desconfianza de la comunidad científica.

Finalmente, en cuanto al tercer requisito (el de tener una adecuada relación coste-efectividad), existen muchos trabajos que estudian la relación coste-eficacia o coste-efectividad de la quimioprevención de los tumores colorrectales con AAS frente a los protocolos de cribado descritos en el apartado “Motivos y justificación del estudio” de la presente Tesis Doctoral. En todos ellos, la conclusión es que una política adecuada de cribado poblacional es una actitud más coste-efectiva que la quimioprevención masiva y generalizada (*Zamora, 2001; Ramsey, 2003*). Sin embargo, los protocolos de cribado están sujetos al problema de la cumplimentación del protocolo, que es más sencilla en el caso de la quimioprevención.

Del mismo modo, Hur (*Hur, 2004*) ha estudiado la relación coste-efectividad de la quimioprevención de tumores colorrectales con AAS frente al uso de coxibs. Ha realizado un modelo simulando una cohorte de varones jóvenes que inician tratamiento con celecoxib a dosis de 400 mg cada 12 horas frente a otra de iguales características pero que toman AAS a dosis de 325 mg diarios y lo ha valorado con un análisis de Markov para calcular los años de vida ajustados por calidad (QUALY o AVAC), los costes, las complicaciones de cada tratamiento y los fallecimientos, extrapolando los datos a 10 años de seguimiento. Los resultados del mismo mostraron que la quimioprevención con AAS presentó 0,03 más

QUALY (o lo que es lo mismo, 11 días de vida ajustados por calidad más) y 23.222 \$ menos de coste por paciente, mayor tasa de hemorragias y menores tasas de IAM y de fallecimientos que la quimioprevención con coxibs. Por ello, el estudio concluye que el AAS debe ser el fármaco de elección para la quimioprevención del CCR en los pacientes sanos. Sin embargo el modelo está realizado calculando una eficacia igual entre AAS y coxibs en la quimioprevención de los tumores colorrectales, premisa que no se ha visto refrendada en otros estudios ni en el presente trabajo.

Por tanto, se continúa buscando la sustancia quimiopreventiva ideal. Los inhibidores de la COX-2 han demostrado ser eficaces en la quimioprevención de tumores colorrectales e incluso hoy en día está aprobado su uso en seres humanos especialmente predispuestos; sin embargo existen muchas dudas en cuanto a la seguridad (sobre todo cardiovascular) de estos fármacos y en cuanto a su relación coste-efectividad en comparación con otras estrategias de prevención.

Conclusiones

Como consecuencia del análisis de los resultados obtenidos, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. *La inhibición selectiva de la actividad COX-2 produce una disminución de la carcinogénesis farmacológicamente inducida comparada con el grupo sin modulación carcinogénica, con una reducción estadísticamente significativa de la superficie y porcentaje de superficie tumoral total (tumores benignos y malignos en conjunto) y del porcentaje de superficie tumoral en los adenocarcinomas.*
2. *La inhibición selectiva de la actividad COX-2 produce una disminución estadísticamente significativa de la expresión de la COX-2 en el tejido tumoral de los adenomas y adenocarcinomas colorrectales inducidos frente a la expresión en el grupo sin modulación carcinogénica.*
3. *La inhibición no selectiva de la actividad COX no ha mostrado diferencias significativas respecto al grupo sin modulación carcinogénica ni en la cantidad de tumor ni en la inhibición selectiva de la COX-2.*

Estas conclusiones permiten elevar la hipótesis planteada a la categoría de tesis, pudiendo afirmar que:

La inhibición selectiva de la actividad COX-2 produce una disminución significativa de la cantidad de tumor mediante la disminución de la expresión de la actividad COX-2 en el tejido tumoral, por lo que presenta un efecto quimiopreventivo positivo en los tumores colorrectales farmacológicamente inducidos en la rata.

Referencias bibliográficas

Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, 2004 - A. Nota informativa: Nuevos datos sobre la seguridad cardiovascular del celecoxib. Disponible en: <http://www.agemed.es/documentos/notasPrensa/csmh/2004/pdf/celebrex.pdf> (visitada el 28 de febrero de 2005).

Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, 2004-B. Nota informativa: Parecoxib: riesgo cardiovascular en cirugía de derivación coronaria y reacciones dermatológicas graves. Disponible en: <http://www.agemed.es/documentos/notasPrensa/csmh/2004/pdf/parecoxib.pdf> (visitada el 28 de febrero de 2005).

Aisen PS, Schafer KA, Grundman M, Pfeiffer E, Sano M, Davis KL et al. Effects of rofecoxib and naproxen vs placebo on Alzheimer disease progression: a randomized, controlled trial. JAMA 2003; 289: 2819-26.

Albanes D, Malila N, Taylor PR. Effects of supplemental alpha-tocopherol and beta-carotene on colorectal cancer: results from a controlled trial (Finland). Cancer Causes Control 2000; 11: 197-205.

American Cancer Society 2004. Cancer Facts & Figures. 2004, Atlanta, Georgia.

Anderson WF, Umar A, Viner JL, Hawk ET. The role of cyclooxygenase inhibitors in cancer prevention. Current Pharmaceutical Design 2002; 8: 1035-62.

André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T et al. Oxalaplatin, fluoruracil and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. NEJM 2004; 350: 2343-51.

Antiplatelet Trialists Collaboration. Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy. I: prevention of death, myocardial infarction and stroke. BMJ 1994; 308: 81-106

Bamba H, Ota S, Kato A, Adachi A, Itoyama S, Matsuzaki F. High expression of cyclooxygenase-2 in macrophages of human colonic adenoma. Int J Cancer 1999; 83: 470-5.

Barnes CJ, Lee M. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the adenomatous polyposis coli Min mouse model with aspirin. Gastroenterology 1998; 114: 873-7.

Baron JA, Beach M, Mandel JS. Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas: Calcium Polyp Prevention Study Group. NEJM 1999; 340: 101-7.

Beazer-Barclay Y, Levy DB, Moser AR, Dove WF, Hamilton SR, Vogelstein B et al. Sulindac suppresses tumorigenesis in the Min mouse. Carcinogenesis 1996; 17: 1757-60.

Becerra CR, Frenkel EP, Ashfaq R, Gaynor RB. Increased toxicity and lack of efficacy of rofecoxib in combination with chemotherapy for treatment of metastatic colorectal cancer: a phase II study. Int J Cancer 2003; 105: 868-72.

Benamouzig R, Chaussade S. La chimioprévention du cancer colorectal. Presse Med 2002; 31: 124-8.

Berry DP, Clarke P, Hardcastle JD, Vellacott KD. Randomized trial of the addition of flexible sigmoidoscopy to fecal occult blood testing for colorectal neoplasia population screening. Br J Surg 1997; 84: 1274-6.

Biondo S, Parés D, Martí.Ragué J, De Oca J, Toral D, García-Borobia F et al. Emergency operations for nondiverticular perforation of the left colon. *Am J Surg* 2002; 183: 256-60.

Biondo S, Martí-Ragué J. Cáncer colorrectal complicado. *Cir Esp* 2003; 73: 30-2.

Bombardier C, Laine L, Reicin A, for the VIGOR Study Group. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *NEJM* 2000; 343: 1520-8.

Bonithon-Kopp C, Kronborg O, Giacosa A, Rath U, Faivre J. Calcium and fibre supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence: A randomised intervention trial. The European Cancer Prevention Organisation Study Group. *Lancet* 2000; 356: 1300-6.

Boobol SK, Danenberg AJ, Chadburn A, Martucci C, Guo XJ, Ramonetti JT et al. Cyclo-oxygenase 2 overexpression and tumor formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Cancer Res* 1996; 56: 2556-60.

Bresalier RS, Sandler RS, Quan H, Bolognese JA, Oxenius B, Horgan K et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. *NEJM* 2005; 352: 1092-102.

Brezden-Masley C, Aronson MD, Bapat B, Pollett A, Gryfe R, Redston M et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer – molecular basis. *Surgery* 2003; 134: 29-33.

Brooks P, Emery P, Evans JF, Fenner H, Hawkey CJ, Patrono C et al. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2. *Rheumatology* 1999; 38: 779-88.

Brown WA, Skinner SA, Malcontenti-Wilson C, Vogliagis D, O'Brien PE. Non-steroidal anti-inflammatory drugs with activity against either cyclooxygenase 1 or cyclooxygenase 2 inhibit colorectal cancer in a DMH rodent model by inducing apoptosis and inhibiting cell proliferation. *Gut* 2001; 48: 660-6.

Calderesi RN. Differential effects of surgical suture materials in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat intestinal neoplasia. *Cancer Res* 1984; 44: 2827-30.

Cannon GW, Caldwell JR, Holt P, McLean B, Seidenberg B, Bolognese J et al. Rofecoxib, a specific inhibitor of cyclooxygenase 2, with clinical efficacy comparable with that of diclofenac sodium: results of a one-year, randomized, clinical trial in patients with osteoarthritis of the knee and hip. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 978-87.

Carmichael J, Popiela T, Radstone D, Falk Sborner M, Oza A et al. Randomized comparative study of ORZEL (oral uracil/tegafur UFT plus leucovorin versus parenteral 5-fluorouracil plus LV) in patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; 18: 264a.

Cocconi D, Cunningham D, van Cutsem E, Francois E, Gustavsson B, van Hazel G et al. Open, randomized, multicenter trial of raltitrexed versus fluorouracil plus high-dose leucovorin in patients with advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2943-52.

Comella P, Casaretti R, Crucitta E, De Vita F, Palmeri S, Avallone A et al. Oxaliplatin plus raltitrexed and leucovorin-modulated 5-fluorouracil i.v. bolus: A salvage regimen for colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2002; 86: 1871-5.

Cunningham D, Zalcberg JR, Rath U, Oliver I, van Cutsem E, Svensson C et al. Final results of a randomised trial comparing tomudex (raltitrexed) with 5-fluoruracil plus leucovorin in advanced colorectal cancer. *Ann Oncol* 1996; 7: 961-5.

Chan AT, Giovannucci EL, Schernhammer ES, Colditz GA, Hunter DJ, Willett WC et al. A prospective study of aspirin use and the risk for colorectal adenoma. *Ann Intern Med* 2004; 140: 157-66.

Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mechanisms underlying nonsteroidal antiinflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 681-6.

Chiu CH, McEntee MF, Whelan J. Sulindac causes rapid regression of preexisting tumors in Min/+ mice independent of prostaglandin biosynthesis. *Cancer Res* 1997; 57: 4267-73.

Day R, Morrison B, Luza A, Castaneda O, Strusberg A, Nahir M et al. A randomized trial of the efficacy and tolerability of the COX-2 inhibitor rofecoxib vs ibuprofen in patients with osteoarthritis. *Arch Intern Med* 2000; 160: 1781-7.

De Gramond A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2938-47.

De Valle E, Muñoz F, de Fuenmayor ML, Rodríguez M, Perea J, Muñoz-Calero A. Resultados de la cirugía con tratamiento neoadyuvante del cáncer de recto. *Cir Esp* 2003; 73: 33-7.

Depre M, Ehrich E, Van Hecken A, De Lepeleire I, Dallob A, Wong P, et al. Pharmacokinetics, COX-2 specificity, and tolerability of supratherapeutic doses of rofecoxib in humans. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56: 167-74.

Dolara P, Caderni G, Tonelli F. Nimesulide, a selective anti-inflammatory cyclo-oxygenase-2 inhibitor, does not affect polyp number and mucosal proliferation in familial adenomatous polyposis. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 1168.

Dorrance HR, Docherty GM, O'Dwyer PJ. Effect of surgeon specialty interest on patient outcome after potentially curative colorectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 492-8.

Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: A multicentre randomised trial. *Lancet* 2000; 355: 10041-7.

DuBois RN, Radhika A, Reddy BS, Entingh AJ. Increased cyclooxygenase-2 levels in carcinogen-induced rat colonic tumors. *Gastroenterology* 1996; 110: 1259-62.

Ehrich EW, Schnitzer TJ, McIlwain H, Levy R, Wolfe F, Weisman M et al. Effect of specific COX-2 inhibition in osteoarthritis of the knee: a 6 week double blind, placebo controlled pilot study of rofecoxib. *J Rheumatol* 1999; 26: 2438-47.

Ehrich EW, Bolognese JA, Watson DJ, Kong SX. Effect of rofecoxib therapy on measures of health-related quality of life in patients with osteoarthritis. *Am J Manag Care* 2001; 7: 609-16.

EMA. European Medicines Agency statement on the suspension of use of Bextra. Disponible en: <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/press/pus/12163705en.pdf> (visitada el 15 de abril de 2005).

Espín E, Armengol M. Radioterapia en el cáncer de recto. Estado actual. Cir Esp 2004; 76: 347-52.

Faivre J, Benhaimiche AM, Dancourt V. La surveillance endoscopique après polypectomie. Quelle efficacité? Quel rythme? Presse Med 2002; 31: 128-31.

Farkouh ME, Kirshner H, Harrington RA, Ruland S, Verheugt FW, Schnitzer EJ et al. Comparison of lumiracoxib with naproxen and ibuprofen in the Therapeutics Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial (TARGET), cardiovascular outcomes: randomised controlled trial. Lancet 2004; 364: 675-84.

Fata F, Mirza A, Wood GC, Nair S, Law A, Gallagher J et al. Efficacy and toxicity of adjuvant chemotherapy in elderly patients with colon carcinoma. Cancer 2002; 94: 1931-8.

Fazio V. Indications and surgical alternatives for palliation of rectal cancer. J Gastrointest Surg 2004; 8: 262-5.

FDA News. February 12, 2004: FDA approves erbitux for colorectal cancer. Available at: <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2004/NEW01024.html> (visitada el 12 de febrero de 2005).

Fenlon HM, Nunes DP, Schroy PC. A comparison of virtual and conventional colonoscopy for detection of colorectal polyps. NEJM 1999; 341: 1496-503.

Fields AL, Keller AM, Schwartzberg L, Bernard S, Pazdur R, Kardinal C et al. Edrecolomab (17-1A antibody) (EDR) in combination with 5-fluoruracil (FU) based chemotherapy in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: results of a randomised north american phase III study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: 128.

Frazier AI, Colditz GA, Fuchs CS. Cost-effectiveness of screening colorectal cancer in the general population. *JAMA* 2000; 284: 1954-61.

Friend WG. Sulindac suppression of colorectal polyps in Gardner's syndrome. *Am Fam Physician* 1990; 41: 891-4.

Gann PH, Manson JE, Glynn RJ, Buring JE, Hennekens CH. Low-dose aspirin and incidence of colorectal tumors in a randomised trial. *J Natl Cancer inst* 1993; 85: 1220-4.

García JA, Morcillo MA, Vázquez JL, Zaragoza C, Moltó M, Cámara J. Cáncer colorrectal en el anciano. Experiencia de los 5 primeros años en un Servicio de Cirugía de un Hospital Comarcal. *Cir Esp* 1996; 60: S256-7.

García-Alfonso P, Muñoz-Martín AJ, García-Adrián S. Tratamiento paliativo del cáncer colorrectal. *Cir Esp* 2003; 73: 46-51.

Garland CF, Garland FC, Gorham ED. Calcium and vitamin D: Their potential roles in colon and breast cancer prevention. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 889: 107-19.

Geba GP, Polis AB, Najarian DK, Dixon ME, Storms WW, Weaver AL. Onset of efficacy and patient assessment of clinical response in osteoarthritis: comparison of rofecoxib to nabumetone. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: S126.

Geusens PP, Truitt K, Sfrikakis P, Zhao PL, DeTora L, Shingo S et al. A placebo and active comparator-controlled trial of rofecoxib for the treatment of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2001; 31: 230-8.

Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R, Le Bail N, Faggiuolo R, Focan C et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 136-48.

Giardello FM, Offerhaus GJ, DuBois RN. The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer prevention. *Eur J Cancer* 1995; 31: 1071-6.

Giardello FM, Offerhaus JA, Tersmette AC, Hyland LM, Krush AJ, Brensinger JD et al. Sulindac induced regression of colorectal adenomas in familial adenomatous polyposis: evaluation of predictive factors. *Gut* 1996; 38: 578-81.

Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willett WC. Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med* 1994; 121: 241-6.

Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *NEJM* 1995; 333: 609-614.

Goldman AP, Williams CS, Sheng H, Lamps LW, Williams VP, Pairet M et al. Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis* 1998; 19: 2195- 9.

Graham GG, Graham RI, Day RO. Comparative analgesia, cardiovascular and renal effects of celecoxib, rofecoxib and acetaminophen (paracetamol). *Current Pharmaceutical Design* 2002; 8: 1063-75.

Grann A, Feng C, Wong D, Saltz L, Paty PP, Guillem JG et al. Preoperative combined modality therapy for clinically resectable uT3 rectal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49: 987-95.

Grávalos-Castro C, Pérez-Escutia MA. Tratamiento adyuvante y resultados. *Cir Esp* 2003; 73: 38-45.

Green GA. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. *Clin Cornerstone* 2001; 3: 50-9.

Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD an the TPPS Group. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *NEJM* 1994; 331: 141-7.

Greene FL, Balch CM, Page DL, Haller DG, Fleming ID, Morrow M et al. Colon and Rectum. In: *AJCC Cancer Staging Handbook*. 6^a Ed. New York: Springer, 2002; 127-38.

Grodstein F, Newcomb PA, Stampfer MJ. Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: A review and meta-analysis. *Am J Med* 1999; 106: 574-82.

Grothey A, Deschler B, Kroeneng H. Bolus 5-fluorouracil / folinic acid (Mayo) vs weekly high-dose 24h 5FU infusion / FA + oxaliplatin in advanced colorectal cancer: Results of a phase III study. *Am Soc Clin Oncol* 2001: 20.

Guttmacher AE, Collins FS. Hereditary Colorectal Cancer. *NEJM* 2003; 348: 919-32.

Halpin RA, Geer LA, Zhang KE, Marks TM, Dean DC, Jones AN, et al. The absorption, distribution, metabolism and excretion of rofecoxib, a potent and selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in rats and dogs. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1244-54.

Hardcastle JD, Chamberlain J, Robinson MH. Randomized, controlled trial of fecal occult blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996; 148: 1472-7.

Harris J, Ryan L, Adams G, Benson A, Haller A. Survival and relapse in adjuvant autologous tumor vaccine therapy for Dukes' B and C colon cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994; 13: 294.

Hawkey CJ. COX-2 inhibitors. *Lancet* 1999; 353: 307-14.

Hawkey CJ, Laine L, Simon T, Beaulieu A, Maldonado-Coco J, Acevedo E et al. Comparison of the effect of rofecoxib (a cyclooxygenase 2 inhibitor), ibuprofen and placebo of the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 370-7.

Hawkey CJ, Laine L, Simon T, Quan H, Shingo S, Evans J. Incidence of gastroduodenal ulcers in patients with rheumatoid arthritis after 12 weeks of rofecoxib, naproxen or placebo: a multicentre, randomised, double blind study. *Gut* 2003; 52: 820-6.

Hebert-Croteau N. A meta-analysis of hormone replacement therapy and colon cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 653-9.

Hirata K, Itoh H, Ohsato K. Regression of rectal polyps by indomethacin suppositories in familial adenomatous polyposis. Report of two cases. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 943-6.

Hirota C, Iida M, Aoyagi K, Matsumoto T, Tada S, Yao T et al. Effect of indomethacin suppositories on rectal polyposis in patients with familial adenomatous polyposis. *Cancer* 1996; 78: 1660-5.

Hixson LJ, Earnest DL, Fennerty MB, Sampliner RE. NSAID effect on sporadic colon polyps. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1652-6.

Hoff P, Ansari R, Batist G, Cox J, Kocha W, Kuperminc M et al. Comparison of oral capecitabine vs intravenous 5-fluoruracil plus leucovorin (Mayo Clinic regimen) as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: Results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2282-92.

Hofstad B, Vath MH, Andersen SN, Owen RW, Larsen S, Osnes M. The relationship between faecal bile acid profile with or without supplementation with calcium and antioxidants on recurrence and growth of colorectal polyps. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7: 287-94.

Hoover HC, Brandhorst JS, Peters LC, Surdyke MG, Takeshita Y, Madariaga J et al. Adjuvant active specific immunotherapy for human colorectal cancer: 6,5-year median follow-up of a phase III prospectively randomized trial. *J Clin Oncol* 1993; 11: 390-9.

Hur C, Simon LS, Gazelle GS. The cost-effectiveness of aspirin versus cyclooxygenase-2-selective inhibitors for colorectal carcinoma prevention in healthy individuals. *Cancer* 2004; 101: 189-97.

Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY. Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *NEJM* 2000; 343: 169-74.

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique. Chemoprevention of colorectal cancer: database of effective agents & diets ranked by potency. Disponible en: <http://www.inra.fr/reseau-nacre/sci-memb/corpet/indexan.html> (visitada el 15 de abril de 2005).

Jacoby RF, Marshall DJ, Newton MA, Novakovic K, Tutsch K, Cole CE et al. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the Apc Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam. *Cancer Res* 1996; 56: 710-4.

Jacoby RF, Seibert K, Cole CE, Kelloff G, Lubet RA. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib is a potent preventive and therapeutic agent in the min mouse model of adenomatous polyposis. *Cancer Res* 2000; 60: 5040-4.

Johnson R, Marsh R, Corson J, Seymour K. A comparison of two methods of palliation of large bowel obstruction due to irremovable colon cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 2004; 86: 99-103.

Jorgensen OD, Kronborg O, Fenger C. The Funen Adenoma Follow-up Study: Incidence and death from colorectal carcinoma in adenoma surveillance program. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 869-74.

Juni P, Nartey L, Reichenbach S, Sterchi R, Dieppe PA, Egger M. Risk of cardiovascular events and rofecoxib: cumulative meta-analysis. *Lancet* 2004; 364: 2021-9.

Kargman SL, O'Neill GP, Vickers PJ, Evans JF, Mancini JA, Jothy S. Expression of prostaglandin G/H synthase -1 and -2 protein in human colon cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 2556-9.

Katz N, Rodgers DB, Krupa D, Reicin A. Onset of pain relief with rofecoxib in chronic low back pain: results of two four-week, randomized, placebo-controlled trials. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 651-8.

Kawamori T, Rao CV, Seibert K, Reddy BS. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1998;58:409-12.

Kim K, Nam E, Lee NS, Lee HR, Lee JY, Lee HR et al. Oxaliplatin and UFT combination chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Am J Clin Oncol* 2002; 25: 354-7.

Kivitz AJ, Greenwald MW, Cohen SB, Polis AB, Najarian DK, Dixon ME et al. Efficacy and safety of rofecoxib 12,5 mg versus nabumetone 1000 mg in patients with osteoarthritis of the knee: a randomized controlled trial. *J AM Geriatr Soc* 2004; 52: 666-74.

Konstam MA, Weir MR, Reicin A, Shapiro D, Sperling RS, Barr E et al. Cardiovascular thrombotic events in controlled, clinical trials of rofecoxib. *Circulation* 2001; 104: 2280-8.

Kronborg O, Fenger C, Olsen J. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal occult blood test. *Lancet* 1996; 348: 1467-71.

Kudo T, Narisawa T, Abo. Antitumor activity of indomethacin on methylazoxymethanol-induced large bowel tumors in rats. *Jpn J Cancer Res* 1980; 71: 260-4.

Kune GA, Kune S, Watson LF. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations and medications: case control results from the Melbourne Colorectal Cancer Study. *Cancer Res* 1988; 48: 4399-404.

Ladenheim J, García G, Titzer D, Herzenberg H, Lavori P, Edson R et al. Effect of sulindac on sporadic colonic polyps. *Gastroenterology* 1995; 108: 1083-7.

Laine L, Harper S, Simon T, Bath R, Johanson J, Schwartz H et al. A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. *Gastroenterology* 1999; 117: 776-83.

Landis SH, Murria T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. *CA Cancer Clin* 1999; 49: 8-31.

Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem* 1997; 272: 3406-10.

Letonturier P. De nouvelles armes contre les cancers colorectaux. *Press Med* 2002; 31: 123.

Lieberman DA, Weiss Dg and the VACSP 380 Study Group. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *NEJM* 2001; 345: 555-60.

Lieberman DA. Screening for colorectal cancer. *Clin Cornerstone* 2002; 4: 1-10.

Lipsky PE, Brooks P, Crofford LJ, DuBois R, Graham D, Simon LS et al. Unresolved issues in the role of cyclooxygenase-2 in normal physiologic processes and disease. *Arch Intern Med* 2000; 160: 913-20.

Lisse JR, Perlman M, Johansson G, Shoemaker JR, Schechtman J, Skalky CS et al. Gastrointestinal tolerability and effectiveness of rofecoxib versus naproxen in the treatment of osteoarthritis: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2003; 139: 539-46.

Liu Z, Tomotake H, Wang G, Watanabe H, Kato N. Combined effect of dietary calcium and iron on colonic aberrant crypt foci, cell proliferation and apoptosis, and fecal bile acids in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. *Oncol Rep* 2001; 8: 893-7.

Loeve F, Brown ML, Boer R. Endoscopic colorectal cancer screening: a cost-saving analysis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 557-63.

Lledó S, García Granero E, García Armengol J. Tratamiento quirúrgico y resultados del cáncer de recto. *Cir Esp* 2003; 73: 25-9.

Maetani I, Tada T, Ukita T, Inoue H, Yoshida M, Saida Y et al. Self-expandable metallic stent placement as palliative treatment of obstructed colorectal carcinoma. *J Gastroenterol* 2004; 39: 334-8.

Mahmoud NN, Boobol SK, Dannenberg AJ, Mestre JR, Bilinsky RT, Martucci C et al. The sulfide metabolite of sulindac prevent tumors and restores apoptosis in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis* 1998; 19: 87-91.

Mahmoud NN, Bilinsky RT, Churcill MR, Edelmann W, Kucherlapati R, Bertagnolli MM. Genotype-phenotype correlation in murine Apc mutation: differences in enterocyte migration and response to sulindac. *Cancer Res* 1999; 59: 353-9.

Maier TJ, Schilling K, Schmidt R, Geisslinger G, Grosch S. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent and –independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 15: 1469-78.

Mamdani M, Jurlink DN, Lee DS, Rochon PA, Kopp A, Naglie G et al. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors versus non-selective anti-inflammatory drugs and congestive heart failure outcomes in elderly patients: a population-based cohort study. *Lancet* 2004; 363: 1751-6.

Mandel JS, Bond JH, Church TR. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. *NEJM* 1993; 328: 1365-71.

Mandel JS, Church TR, Bond JH, Ederer F, Geisser MS, Mongin SJ et al. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 343: 1603-7.

Marsh PH, James RD, Schofield PF. Adjuvant preoperative radiotherapy for locally advanced rectal carcinoma: Results of a prospective, randomised trial. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1205-14.

Martinez ME. Primary prevention of colorectal cancer: lifestyle, nutrition, exercise. *Recent Results Cancer Res* 2005; 166: 177-211.

Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SI, Woerner BM et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000; 60: 1306-11.

Matsushashi N, Nakajima A, Fukushima Y, Yazaki Y, Oka T. Effects of sulindac on sporadic colorectal adenomatous polyps. *Gut* 1997; 40: 344-9.

Maughan T, James R, Kerr D, Ledermann JA, McArdle C, Seymour MT et al. Comparison of survival, palliation and quality of life with three chemotherapy regimens in metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 1555-63.

McEntee MF, Chiu CH, Whelan J. Relationship of beta-catenin and Bcl-2 expression to sulindac-induced regression of intestinal tumors in Min mice. *Carcinogenesis* 1999; 20: 635-40.

McGregor JR, Galloway DJ, Jarret F, Brown IL, George WD. Anastomotic suture materials and experimental colorectal carcinogenesis. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 987-92.

Merck & Co., Inc; 2004-A. Voluntary Worldwide Withdrawal of VIOXX ®. Available at: <http://www.vioxx.com/rofecoxib/vioxx/consumer/index.jsp> (visitada el 2 de diciembre de 2004).

Merck & Co., Inc; 2004-B. Response to article published by Jüni et al. Available at: http://www.merck.com/statement_2004_1105/lancet.pdf (visitada el 2 de febrero de 2005).

Merck & Co., Inc; 2004-C. Remarks of President of Merck Research Laboratories. Available at: http://www.merck.com/newsroom/vioxx_withdrawal/pdf/10_13_2004_psk.pdf (visitada el 2 de febrero de 2005).

Merck & Co., Inc; 2004-D. VIOXX timeline. Available at: http://www.merck.com/newsroom/vioxx_withdrawal/pdf/vioxx_timeline.pdf (visitada el 2 de febrero de 2005).

Miao YM, Amin Z, Healy J. A prospective single centre study comparing computed tomography pneumocolon against colonoscopy in the detection of colorectal neoplasms. Gut 2000; 47: 832-7.

Nakamura S, Suzuki J, Baba S. Resection of liver metastases of colorectal carcinoma. World J Surg 1997; 21: 741-7.

National Institutes of Health. Rofecoxib after surgery in treating patients with stage II or III colorectal cancer. USA (web en línea). Disponible en Internet en: <http://www.clinicaltrials.gov> (visitada el 4 de enero de 2003).

Ness RM, Homes AM, Klein R. Cost-utility of one-time colonoscopic screening for colorectal cancer at various ages. Am J Gastroenterol 2000; 95: 1800-11.

Newcomb PA, Norfleet RG, Storer BE. Screening sigmoidoscopy and colorectal cancer mortality. J Natl Cancer Inst 1992; 84: 1572-5.

Nicoll-Griffith DA, Yergey JA, Trimble LA, Silva JM, Li C, Chauret N, et al. Synthesis, characterization, and activity of metabolites derived from the cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib (MK-0966, Vioxx). Bioorg Med Chem Lett 2000; 10: 2683-6.

Nigro ND, Bull AW, Boyd ME. Inhibition of intestinal carcinogenesis in rats: effects of difluorometylnornithine with piroxicam or fish oil. J Natl Cancer Inst 1986; 77: 1309-13.

Niv Y, Fraser GM. Adenocarcinoma in the rectal segment in familial polyposis coli is not prevented by sulindac therapy. Gastroenterology 1994; 107: 854-7.

Noguera JF, Zurita M, Tortajada C, Amengual I, Soro JA. Tumores cólicos perianastomóticos tras inclusión de titanio y Lactomer ® en la línea anastomótica. Un estudio experimental en ratas. *Rev Esp Enferm Dig* 2000; 92: 36-9.

Noguera JF, Tortajada C, Morón JM, Plaza Á, Amengual I, Pujol JJ. Experimental model for the study of perianastomotic recurrence in colorectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 2002-A; 94: 131-4.

Noguera JF, Tortajada C, Amengual I, Morón JM, Plaza Á, Pujol JJ. Carcinogénesis cólica experimental farmacológicamente inducida en ratas. *Span J Surg Res* 2002-B; 2: 59-62.

Noguera JF, Plaza Á, Amengual I, Morón JM, Tortajada C, Pujol JJ. Influence of rofecoxib on experimental colonic carcinogenesis in rats. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 678-86.

Nordlinger B, Guiget M, Vaillant JC, Balladur P, Boudjema K, Bachellier PH et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver: a prognostic scoring system to improve case selection. *Cancer* 1996; 771: 1254-62.

Nussmeier NA, Welton AA, Brown MT, Langford RM, Hoeft A, Parlow JL et al. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac surgery. *NEJM* 2005; 352: 1081-91.

O'Brien BD, Brown MG, Kephart G. Estimation of hospital costs for colorectal cancer in Nova Scotia. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 43-7.

Oliveira EC, Leite MS, Miranda JA, Andrade AL, Garcia SB, Luquetti AO et al. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection associated with low incidence of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Carcinogenesis* 2001; 22: 737-40.

Oshima M, Oshima H, Kitagawa K, Kobayashi M, Itakura C, Taketo M. Loss of Apc heterozygosity and abnormal tissue building in nascent intestinal polyps in mice carrying a truncated Apc gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4482-6.

Oshima M, Murai N, Kargman S, Arguello M, Luk P, Kwong E et al. Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apc ⁷¹⁶ mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res* 2001; 61: 1733-40.

Oshima M, Taketo MM. COX selectivity and animal models for colon cancer. *Current Pharmaceutical Design* 2002; 8: 1021-34.

Ott E, Nussmeier NA, Duke PC, Feneck RO, Alston RP, Snabes MC et al. Efficacy and safety of the cyclooxygenase 2 inhibitors parecoxib and valdecoxib in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 125: 1481-92.

Paganini-Hill A, Chao A, Ross RK, Henderson BE. Aspirine use and chronic diseases: a cohort study of the elderly. *BMJ* 1989; 299: 1247-50.

Paganini-Hill A. Aspirin and colorectal cancer: the Leisure World cohort revisited. *Prev Med* 1995; 24: 113-5.

Park BH, Vogelstein B, Kinzler KW. Genetic disruption of PPARdelta decreases the tumorigenicity of human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 2598-603.

Pazdur R, Vincent M. Raltitrexed, tomudex versus 5-fluoruracil and leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: Results of a randomized multicenter North American trial. Proc Am Soc Clin Oncol 1997; 16: 228a.

Pazdur R, Douillard JY, Skillings JR. Multicenter phase III study of fluoruracil of UFT in combination with leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer. Proc Am Soc Clin Oncol 1999; 18: 263a.

Peleg II, Lubin MF, Cotsonis GA, Clark WS, Wilcox CM. Long-term use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and other chemopreventors and risk of subsequent colorectal neoplasia. Dig Dis Sci 1996; 41: 1319-26.

Phillips RKS, Cook HT. Effect of steel wire sutures on the incidence of chemically induced rodent colonic tumors. Br J Surg 1986; 73: 671-4.

Piqué JM. Cáncer colorrectal. En: Farreras P, Rozman C, eds. Medicina Interna. Barcelona: Ediciones Doyma, 1992: 187-92.

Plaza Á, Noguera JF, Morón JM, Ortiz E. Quimioprevención del cáncer colorrectal con inhibidores de la ciclo-oxigenasa-2. Aten Farm 2003; 5: 33-44.

Pollard M, Luckert PH. Effect of indomethacin on intestinal tumors induced in rats by the acetate derivative of dimethylnitrosamine. Science 1981; 214: 558-9.

Prinz-Langenohl R, Fohr I, Pietrzik K. Beneficial role for folate in the prevention of colorectal and breast cancer. Eur J Nutr 2001; 40: 98-105.

Punt CJ, Nagy A, Douillard JY, Figer A, Skovsgaard T, Monson J et al. Edrecolomab (17-1A antibody) alone or in combination with 5-fluoruracil based chemotherapy in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: results of a phase III study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20: 123.

Rahme E, Pilote L, LeLorier J. Association between naproxen use and protection against acute myocardial infarction. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1111-5.

Rahme E, Barkun AN, Toubouti Y, Bardou M. The cyclooxygenase-2-selective inhibitors rofecoxib and celecoxib prevent colorectal neoplasia occurrence and recurrence. *Gastroenterology* 2003; 125: 404-12.

Ramsey SD, Mandelson MT, Berry K, Etzioni R, Harrison R. Cancer-attributable costs of diagnosis and care for persons with screen-detected versus symptom-detected colorectal cancer. *Gastroenterology* 2003; 125: 1645-50.

Rao CV, Rivenson A, Simi B, Zang E, Kelloff G, Steele V et al. Chemoprevention of colon carcinogenesis by sulindac, a nonsteroidal anti-inflammatory agent. *Cancer Res* 1995; 55: 1464-72.

Rasmussen M, Kronborg O, Fenger C, Jorgensen OD. Possible advantages and drawbacks of adding flexible sigmoidoscopy to Hemoccult-II in screening for colorectal cancer. *Scand J Gastroenterology* 1999; 34: 73-8.

Read TE, Ogunbiyi OA, Fleshman JW, Birnbaum EH, Fry RD, Myerson RJ et al. Neoadjuvant external beam radiation and proctectomy for adenocarcinoma of the rectum. *Dis Colon Rectum* 2001; 12: 1778-90.

Reddy BS, Tokumo K, Kulkarni N, Aligia C, Kelloff G. Inhibition of colon carcinogenesis by prostaglandin synthesis inhibitors and related compounds. *Carcinogenesis* 1992; 13: 1019-23.

Reddy BS, Rao CV, Rivenson A, Kelloff G. Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Carcinogenesis* 1993;14:1493-7.

Reddy BS, Rao CV. Colon cancer: a role for cyclo-oxygenase-2-specific nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs & Aging* 2000-A; 16: 329-34.

Reddy BS, Hirose Y, Lubet R, Steele V, Kelloff G, Paulson S et al. Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis. *Cancer Res* 2000-B; 60: 293-7.

Reeves MJ, Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Storer BE, Remington PL. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and protection against colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 955-60.

Reicin AS, Shapiro D, Sperling RS, Barr E, Yu Q. Comparison of cardiovascular thrombotic events in patients with osteoarthritis treated with rofecoxib versus nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs (ibuprofen, diclofenac and nabumetone). *Am J Cardiol* 2002; 89: 204-9.

Reines SA, Block GA, Morris JC, Liu G, Nessly ML, Lines CR et al. Rofecoxib: no effects on Alzheimer's disease in a 1-year, randomized, blinded, controlled study. *Neurology* 2004; 62: 66-71.

Riethmueller G, Holz E, Schlimok G, Schmiegel W, Raab R, Höffken K et al. Monoclonal antibody therapy for resected Dukes C colorectal cancer: seven years outcome of a multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1788-94.

Rigau J, Pique JM, Rubio E, Planas R, Tarrech JM, Bordas JM. Effects of long term sulindac therapy in colonic polyposis. *Ann Intern Med* 1991; 115: 952-4.

Ritland SR, Gendler SJ. Chemoprevention of intestinal adenomas in the ApcMin mouse by piroxicam: kinetics, strain effects and resistance to chemosuppression. *Carcinogenesis* 1999; 20: 51-8.

Roig JV, Solana A, Alós R. Tratamiento quirúrgico y resultados del cáncer de colon. *Cir Esp* 2003; 73: 20-4.

Rosenberg L, Palmer JR, Zauber AG, Warshauer ME, Stoley PD, Shapiro S. A hypothesis: nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 355-8.

Rouanet P, Fabre JM, Dubois JB, Dravet F, Saint Aubert B, Pradel J et al. Conservative surgery for low rectal carcinoma after high-dose radiation: functional and oncologic results. *Ann Surg* 1995; 221: 67-73.

Roy HK, Karolski WJ, Ratashak A. Distal bowell selectivity in the chemoprevention of experimental colon carcinogenesis by the nonsteroidal anti-inflammatory drug nabumetone. *Int J Cancer* 2001; 92: 609-15.

Runkel NS, Hinz U, Lehnert T, Buhr HJ, Herfarth CH. Improved outcome after emergency surgery for cancer of the large intestine. *Br J Surg* 1998;85:1260-5.

Saag K, van der Heijde D, Fisher C, Samara A, DeTora L, Bolognese J et al. Rofecoxib, a new cyclooxygenase 2 inhibitor, shows sustained efficacy, comparable with other nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a 6-week and a 1-year trial in patients with osteoarthritis. Arch Fam Med 2000; 9: 1124-34.

Sakamoto S, Tsukada K, Sagara T, Kawachi Y, Murakami S, Iwama T. Human colorectal malignancy and oral UFT. Anticancer Res 2002; 22: 339-41.

Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ et al. Irinotecan plus fluoruracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. NEJM 2000; 343: 905-14.

Scheele J, Stang R, Altendorf-Hofman A, Paul M. Resection of colorectal liver metastases. World J Surg 1995; 19: 59-71.

Schreinemachers DM, Everson RB. Aspirin use and lung, colon and breast cancer incidence in a prospective study. Epidemiology 1994; 5: 138-46.

Scheithauer W, Rosen H, Kornek G, Sebesta C, Depisch D. Randomised comparison of combination chemotherapy plus supportive care with supportive care alone in patients with metastatic colorectal cancer. BMJ 1993; 306: 752-755.

Schnitzer TJ, Truitt K, Fleischmann R, Dalgin P, Block J, Zeng Q et al. The safety profile, tolerability and effective dose range of rofecoxib in the treatment of rheumatoid arthritis. Clin Ther 1999; 21: 1688-702.

Scott LJ, Lamb HM. Rofecoxib. Drugs 1999; 58: 499-505.

Scout G, Rordorf C, Blood P, Branson J, Milosavjev S, Greig G. Dose scalation study to assess the safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of COX189 in healthy subjects. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 (supl.1): 242.

Seifeldin R, Hantsch JJ. The economic burden associated with colon cancer in the United States. *Clin Ther* 1999; 21: 1370-9.

Selby JV, Friedman GD, Quesenberry CP. A case-control study of screening sigmoidoscopy and mortality from colorectal cancer. *NEJM* 1992; 326: 653-7.

Selke B, Durand I, Marissal JP, Chevalier D, Lebrun T. Coût du cancer colorectal en France en 1999. *Gastroenterol Clin Biol* 2003; 27: 22-7.

Sequeira JL, Kobayasi SS, Rodrigues MA. Early and late effects of wound healing on development of colon tumors in a model of colon carcinogenesis by 1,2-dimethylhydrazine in the rat. *Pathology* 2000; 32: 250-2.

Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, MacSweeney F, Conroy RM, Fitzgerald DJ et al. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999; 282 (13): 1254-7.

Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, for the Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomised controlled trial. *JAMA* 2000; 284: 1247-55.

Simons HC. 5-fluor-uracil plus cyclo-oxygenase-2 inhibitor for metastatic colon. USA (web en línea). Disponible en: <http://www2.utsouthwestern.edu/cancerctr/clinicaltrials/colon.htm>. (visitada el 4 de enero de 2003).

Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer. Arch Intern Med 1999; 159: 161-6.

Spinelli P, Mancini A. Use of self-expanding metal stents for palliation of rectosigmoid cancer. Gastrointest Endosc 2001; 53: 203-6.

Solomon SD, McMurray JJV, Pfeffer MA, Wittes J, Fowler R, Finn P et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention. NEJM 2005, 352: 1071-80.

Sonnenberg A, Delco F, Inadomi JM. Cost-effectiveness of colonoscopy in screening for colorectal cancer. Ann Intern Med 2000; 133: 573-84.

Souglakos J, Mavroudis D, Kakolyris S, Kourousis C, Vardakis N, Androulakis N et al. Triplet combination with irinotecan plus oxaliplatin plus continuous-infusion fluorouracil and leucovorin as first-line treatment in metastatic colorectal cancer: A multicenter phase II trial. J Clin Oncol 2002; 20: 2651-7.

Spagnesi MT, Tonelli F, Dolara P, Caderni G, Valanzano R, Anastasi A et al. Rectal proliferation and polyp occurrence in patients with familial adenomatous polyposis after sulindac treatment. Gastroenterology 1994; 106: 362-6.

Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB et al. The effect of celecoxib, a cyclo-oxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *NEJM* 2000; 342: 1946-52.

Su LK, Kinzler KW, Vogelstein B, Preisinger AC, Moser AR, Luongo C et al. Multiple intestinal neoplasia caused by a mutation in the murine homolog of the Apc gene. *Science* 1992; 256: 668-70.

Suh O, Mettlin C, Petrelli NJ. Aspirin use, cancer and polyps of the large bowel. *Cancer* 1993; 72: 1171-7.

Taïeb J, Boige V, Ducreaux M. La nouvelle chimiothérapie des cancers coliques. *Presse Med* 2002; 31: 132-8.

Takayama T, Katsuki S, Takahashi Y, Ohi M, Nojiri S, Sakamaki S et al. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *NEJM* 1998; 339: 1277-84.

Taxonera C, Mendoza JL. Colorectal cancer and coxibs. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 673-7.

Thiis-Evensen E, Hoff GS, Sauar J, Langmark F, Majak BM, Vatn MH. Population-based surveillance by colonoscopy: Effect on the incidence of colorectal cancer. Telemark Polyp Study. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 414-20.

Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW. Aspirin use and reduce risk of fatal colon cancer. *NEJM* 1991; 325: 1593-6.

Tobaruela E, Díez M, Enríquez JM, Camuñas J, Domínguez P, Rodríguez A et al. Valor pronóstico de variables histopatológicas en el cáncer colorrectal. *Cir Esp* 1996; 60: S145.

Tonelli F, Valanzano R, Dolara P. Sulindac therapy of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis. *Dig Dis* 1994; 12: 259-64.

Torras J, Figueres J. Metástasis hepáticas de carcinoma colorrectal. *Cir Esp* 2003; 73: 68-73.

Truitt KE, Sperling RS, Ettinger WH Jr et al. A multicenter, randomized, controlled trial to evaluate the safety profile, tolerability and efficacy of rofecoxib in advanced elderly patients with osteoarthritis. *Aging Clin Exp Res* 2001 - A; 13: 112-21.

Truitt KE, Lee M, DeTora LM, Anderson M, Zhao Rahway PL. Results of a pivotal (phase III) placebo and active comparator controlled efficacy trial of rofecoxib 12,5 and 25 mg in adult patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001 - B; 44: S369.

van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, Llamas D, Bayeta E, Bover M et al. Oral capecitabine compared with intravenous 5-fluorouracil plus leucovorin (Mayo Clinic regimen) in patients with metastatic colorectal cancer: Results of a large phase III study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 4097-106.

van Cutsem E, Cunningham D, Maroun J, Cervantes A, Glimelius B. Raltitrexed: current clinical status and future directions. *Ann Oncol* 2002; 13: 513-22.

van Stolk R, Stoner G, Hayton WL, Chan K, DeYoung B, Kresty L et al. Phase I trial of exisulind (sulindac sulfone, FGN-1) as a chemopreventive agent in patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 78-89.

Vane JR, Bakle YS, Botting RM. Cyclo-oxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97-120.

Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424-5.

Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116: 1453-6.

Vega DS, Esteban F, Sanz R, Durán M, Tamames S. Análisis uni y multivariante de los factores que influyen la supervivencia del carcinoma colorrectal sometido a resección curativa. *Cir Esp* 1996; 60: S145.

Vermorken JB, Caessen AM, van Tintern H, Gall HE, Ezinga R, Meijer S et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. *Lancet* 1999; 353: 345-50.

Wargovich MJ, Chen CD, Harris C. Inhibition of aberrant crypt growth by nonsteroidal anti-inflammatory agents and differentiation agents in the rat colon. *Int J Cancer* 1995; 60: 515-9.

Watson DJ, Rhodes T, Cai B, Guess HA. Lower risk of thromboembolic cardiovascular events with naproxen among patients with rheumatoid arthritis. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1105-10.

Watson P, Lynch HT. The tumor spectrum in HNPCC. *Anticancer Res* 1994; 14: 1635-9.

Weir MR, Sperling RS, Reicin A, Gertz BJ. Selective COX-2 inhibition and cardiovascular effects: a review of the rofecoxib development program. *Am Heart J* 2003; 146: 591-604.

White WB, Faich G, Borer JS, Makuch WM. Cardiovascular thrombotic events in arthritis trials of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib. *Am J Cardiol* 2003; 92: 411-8.

Williams CS, Smalley W, DuBois RN. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. *J Clin Invest* 1997; 100: 1-5.

Williams CS, Mann M, DuBois R. The role of cyclo-oxygenases in inflammation, cancer and development. *Oncogene* 1999; 18: 7908-16.

Williams CS, Watson AJM, Sheng H, Helou R, Shao J, DuBois RN. Celecoxib prevents tumor growth in vivo without toxicity to normal gut: lack of correlation between in vitro and in vivo models. *Cancer Res* 2000; 60: 6045-51.

Winawer SJ, Zauber AG, Nah Ho M. Prevention of colorectal cancer by colonoscopy polypectomy. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-81.

Winawer SJ, Stewart ET, Zauber AG and the National Polyp Study Workgroup. A comparison of colonoscopy and double-contrast barium enema for surveillance after polypectomy. *N Engl J Med* 2000; 342: 1766-72.

Yamada Y, Yoshimi N, Hirose Y, Hara A, Shimizu M, Kuno T, et al. Suppression of occurrence and advancement of β -catenin-accumulated crypts, possible premalignant lesions of colon cancer, by selective cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 617-23.

Yamamoto Y, Yin MJ, Lin KM, Gaynor RB. Sulindac inhibits activation of the NF-kappaB pathway. *J Biol Chem* 1999; 274: 27307-14.

Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutical potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001; 107: 135-42.

Yoshimi N, Kawabata K, Hara A, Matsunaga K, Yamada Y, Mori H. Inhibitory effect of NS-398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in colon carcinogenesis of F344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88: 1044-51.

Yoshimi N, Shimizu M, Matsunaga K, Yamada Y, Fujii K, Hara A, et al. Chemopreventive effect of N-(2-cyclohexyloxy-4-nitrophenyl)methane sulfonamide (NS-398), a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in rat colon carcinogenesis induced by azoxymethane. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 406-12.

Young D. FDA labors over NSAID decisions: panel suggests COX-2 inhibitors stay available. *Am J Health-Syst Pharm* 2005; 62: 668-72.

Zamora D. Colon cancer screening more effective for prevention than aspirin. *Ann Intern Med* 2001; 135: 769-81.

Zhang L, Xu J, Park BH, Kinzler KW, Vogelstein B. Role of BAX in the apoptotic response to anticancer agents. *Science* 2000;290:989-92.

Apéndices

10.1. PIES DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Evolución de la mortalidad producida por el CCR en las últimas décadas, en hombres y mujeres. Modificado de Cancer & Facts 2004, American Cancer Society.

Figura 2: Secuencia de transformación de epitelio normal en carcinoma invasor.

Figura 3: Representación esquemática de los niveles de afectación de la pared cólica (T).

Figura 4: Vía de formación de las prostaglandinas (PG) a partir de ácido araquidónico.

Figura 5: Mecanismo quimiopreventivos dependientes e independientes de la inhibición de la COX-2.

Figura 6: Esquema cronológico del estudio.

S -1: Semana previa al inicio de la manipulación

S 0: Semana del inicio de la manipulación experimental

S 18: Semana de finalización de la manipulación experimental

S 20: Sacrificio

Figura 7: Laparotomía.

Figura 8: Exposición del contenido peritoneal.

Figura 9: Pieza extraída.

Figura 10: Pieza abierta.

Figura 11: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DMH.

Figura 12: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DMH + AAS.

Figura 13: Fotografía resumen de los intestinos gruesos de los animales del grupo DMH + RFC.

Figura 14: Adenocarcinoma. Tinción Hematoxilina-eosina.

Figura 15: Adenocarcinoma. Tinción inmunohistoquímica de la actividad COX-2.

Figura 16: Medias de peso de los animales de los tres grupos y ganancias ponderales.

Figura 17: Número de tumores microscópicos.

ADN: Adenomas. ADC: Adenocarcinomas.

Figura 18: Superficie tumoral microscópica.

ADN: Adenomas. ADC: Adenocarcinomas.

Figura 19: Porcentaje de superficie tumoral microscópica.

ADN: Adenomas. ADC: Adenocarcinomas.

Figura 20: Esquema resumen de los resultados microscópicos.

Figura 21: Expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

Figura 22: Expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.

Tabla I: Mutaciones más frecuentemente observadas en los CCR esporádicos.

Tabla II: Criterios de Amsterdam para el diagnóstico de CCR-HNP.

Tabla III: Diferentes clasificaciones para el estadiaje tumoral en el CCR.

MAC: Modificación de Astler – Coller.

Tabla IV: Regímenes de quimioterapia adyuvante en el CCR.

5-FU / LV: 5-fluoruracilo / leucovorin.

Tabla V: Características de las pruebas de cribado para el diagnóstico precoz del CCR.

Tabla VI: Recomendaciones de la *American Cancer Society* para el cribado de CCR.

Tabla VII: Características farmacocinéticas de celecoxib y rofecoxib.

T_{max} : Tiempo en alcanzar la concentración plasmática máxima tras la ingesta.

$T_{1/2}$: Vida media.

Tabla VIII: Estudios epidemiológicos más relevantes.

RR: Riesgo Relativo.

IC95%: Intervalo de Confianza al 95%.

Cursiva *: Estudios en los que no se demostró efecto protector.

Cursiva **: Estudio en el que se demostró un efecto predisponente.

Tabla IX: Composición cuantitativa y cualitativa de la dieta A.04 (Panlab, España).

Tabla X: Dosis subcutánea semanal de 1,2-dimetilhidrazina, según el peso del animal

Dosis: 25 mg / Kg de peso. Solución: 0,5%, DMH 250 mg + EDTA 50 ml.

Presentación: Frasco de 50 ml de solución DMH – EDTA al 0,5%.

Tabla XI: Ganancia ponderal de los animales durante el estudio.

Peso en mg.

Tabla XII: Dosis semanal de carcinógeno administrado, según el peso del animal.

Peso en mg. Dosis en ml de solución DMH – EDTA al 0,5%.

Tabla XIII: Parámetros macroscópicos.

ST: Superficie tumoral (en centímetros cuadrados, cm²).

LC: Longitud del colon (en centímetros, cm).

AC: Anchura del colon (en cm).

SC: Superficie cólica (en cm²).

PST: Porcentaje de superficie tumoral (en %).

Tabla XIV: Resumen de los parámetros macroscópicos por grupos.

ST: Superficie tumoral (en centímetros cuadrados, cm²).

LC: Longitud del colon (en centímetros, cm).

AC: Anchura del colon (en cm).

SC: Superficie cólica (en cm²).

PST: Porcentaje de superficie tumoral (en %).

Tabla XV: Resultados microscópicos de los adenomas.

Nº ADN: Nº ordinal de adenomas.

STB: Superficie tumoral benigna (en cm²).

PSB: Porcentaje de superficie tumoral benigna (en %).

Tabla XVI: Resultados microscópicos de los adenocarcinomas.

Nº ADC: Nº ordinal de adenocarcinomas.

STM: Superficie tumoral maligna (en cm²).

PSM: Porcentaje de superficie tumoral maligna (en %).

Tabla XVII: Resultados microscópicos de todos los tumores.

ADN: Adenoma.

ADC: Adenocarcinoma.

STT: Superficie tumoral total (en cm²).

PSTT: Porcentaje de superficie tumoral total (en %).

Tabla XVIII: Resumen de los parámetros microscópicos.

ADN: Adenoma. STB: Superficie tumoral benigna. PSTB: Porcentaje de superficie tumoral benigna.

ADC: Adenocarcinoma. STM: Superficie tumoral maligna. PSTM: Porcentaje de superficie tumoral maligna.

N: Tumores totales. STT: Superficie tumoral total. PSTT: Porcentaje de superficie tumoral total.

Negrita, cursiva *: Diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XIX: Anova de dos colas para adenomas.

Tabla XX: Anova de dos colas para adenocarcinomas.

Rojo: diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XXI: Anova de dos colas para todos los tumores.

Rojo: diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XXII: Grado de diferenciación celular de los adenocarcinomas.

BD: Bien diferenciados. MD: Moderadamente diferenciados. PD: Pobrementemente diferenciados.

Tabla XXIII: Nivel de invasión de los adenocarcinomas.

Tabla XXIV: Resumen de la expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

Tabla XXV: Resumen de la expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.

Tabla XXVI: Anova de la expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

Rojo: diferencias estadísticamente significativas.

Tabla XXVII: Anova de la expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.

Rojo: diferencias estadísticamente significativas.

10.2. TABLAS

Tabla IX: Composición cuantitativa y cualitativa de la dieta A0.4 (Panlab, España).

PROTEINA BRUTA	17,62
MATERIAS GRASAS BRUTAS	2,50
CELULOSA BRUTA	4,05
CENIZAS BRUTAS	4,38
ALMIDÓN	43,3
CALCIO	0,66
FÓSFORO	0,49
SODIO	0,14
LISINA	0,85
METIONINA	0,29
VITAMINA A	7500 UI
VITAMINA D	1500 UI
VITAMINA E	15 mg
HUMEDAD	10,54

Tabla X: Dosis subcutánea semanal de 1,2-dimetilhidrazina, según el peso del animal.

PESO (gr)	DOSIS SEMANAL (mg)	DOSIS DE SOLUCIÓN (ml)	DOSIS (U.L.)
100	2,5	0,5	20
110	2,75	0,55	22
120	3	0,6	24
130	3,25	0,65	26
140	3,5	0,7	28
150	3,75	0,75	30
160	4	0,8	32
170	4,25	0,85	34
180	4,5	0,9	36
190	4,75	0,95	38
200	5	1	40
210	5,25	1,05	42
220	5,5	1,1	44
230	5,75	1,15	46
240	6	1,2	48
250	6,25	1,25	50
260	6,5	1,3	52
270	6,75	1,35	54
280	7	1,4	56
290	7,25	1,45	58
300	7,5	1,5	60
310	7,75	1,55	62
320	8	1,6	64
330	8,25	1,65	66
340	8,5	1,7	68
350	8,75	1,75	70
360	9	1,8	72
370	9,25	1,85	74
380	9,5	1,9	76
390	9,75	1,95	78
400	10	2	80
410	10,25	2,05	82
420	10,5	2,1	84
430	10,75	2,15	86
440	11	2,2	88
450	11,25	2,25	90
460	11,5	2,3	92
470	11,75	2,35	94
480	12	2,4	96
490	12,25	2,45	98
500	12,5	2,5	100
510	12,75	2,55	102
520	13	2,6	104
530	13,25	2,65	106
540	13,5	2,7	108
550	13,75	2,75	110
560	14	2,8	112
570	14,25	2,85	114
580	14,5	2,9	116
590	14,75	2,95	118
600	15	3	120

Tabla XI: Ganancia ponderal de los animales durante el estudio.

GRUPO	OFA	INICIO	PESO1	PESO2	PESO3	PESO4	PESO5	PESO6	PESO7	PESO8	PESO9	PESO10
DMH	46	20.09.2000	165	210	260	290	320	325	330	350	360	370
DMH	47	20.09.2000	165	200	250	280	325	340	350	365	380	390
DMH	48	20.09.2000	170	230	270	298	320	350	360	370	380	420
DMH	49	20.09.2000	180	230	275	310	325	365	370	370	380	370
DMH	50	20.09.2000	180	230	275	308	340	350	360	390	395	420
DMH	51	20.09.2000	175	200	265	310	340	370	370	390	400	370
DMH	52	20.09.2000	175	220	275	300	330	350	360	380	385	415
DMH	53	20.09.2000	185	220	270	290	320	330	340	355	360	370
DMH	54	20.09.2000	155	220	280	310	340	360	360	370	380	350
DMH	55	20.09.2000	180	200	250	280	320	330	350	350	360	350
DMH + AAS	56	10.04.2001	300	320	340	380	450	450	460	470	480	495
DMH + AAS	57	10.04.2001	310	340	360	380	400	410	420	440	450	450
DMH + AAS	58	10.04.2001	350	370	380	400	420	390	390	410	410	415
DMH + AAS	59	10.04.2001	300	330	340	390	400	410	420	440	440	465
DMH + AAS	60	10.04.2001	350	380	400	450	480	470	470	470	460	500
DMH + AAS	61	10.04.2001	310	330	330	380	420	430	420	420	420	450
DMH + AAS	62	10.04.2001	320	330	370	390	400	400	400	420	420	430
DMH + AAS	63	10.04.2001	330	340	360	380	390	420	410	410	420	430
DMH + AAS	64	10.04.2001	400	410	440	480	500	510	500	500	500	500
DMH + AAS	65	10.04.2001	395	400	450	500	530	560	560	560	550	500
DMH + RFC	66	16.01.2001	160	190	190	270	310	330	340	360	390	400
DMH + RFC	67	16.01.2001	170	190	180	290	300	320	340	350	350	360
DMH + RFC	68	16.01.2001	170	180	190	280	320	345	370	380	370	375
DMH + RFC	69	16.01.2001	160	190	190	290	320	360	390	410	430	420
DMH + RFC	70	16.01.2001	170	180	200	290	310	315	340	340	350	350
DMH + RFC	71	16.01.2001	170	185	160	270	280	300	320	320	380	400
DMH + RFC	72	16.01.2001	160	180	180	240	300	320	340	340	360	360
DMH + RFC	73	16.01.2001	170	185	170	260	310	330	350	330	340	370
DMH + RFC	74	16.01.2001	170	190	180	270	290	310	360	340	380	385
DMH + RFC	75	16.01.2001	160	200	190	290	320	350	330	370	340	370

TABLA XI (Continuación)

GRUPO	OFA	PESO11	PESO12	PESO13	PESO14	PESO15	PESO16	PESO17	PESO18	SACRIFICIO	PESO20
DMH	46	370	370	370	380	400	410	410	405	30.01.2001	420
DMH	47	390	400	400	410	430	440	430	440	30.01.2001	450
DMH	48	410	400	400	410	440	440	430	450	30.01.2001	460
DMH	49	385	400	410	430	450	450	450	450	30.01.2001	460
DMH	50	430	430	435	445	470	480	470	480	30.01.2001	500
DMH	51	390	370	410	420	460	475	470	480	30.01.2001	490
DMH	52	340	370	375	380	400	400	470	370	30.01.2001	400
DMH	53	366	380	380	400	420	430	420	420	30.01.2001	420
DMH	54	370	390	390	400	440	440	435	430	30.01.2001	450
DMH	55	340	370	365	375	400	415	420	430	30.01.2001	460
DMH + AAS	56	490	490	510	500	510	510	500	470	28.08.2001	510
DMH + AAS	57	450	460	480	470	430	430	440	460	28.08.2001	490
DMH + AAS	58	430	420	500	500	500	500	500	500	28.08.2001	520
DMH + AAS	59	470	480	430	430	450	440	440	460	28.08.2001	460
DMH + AAS	60	470	480	500	500	510	490	490	500	28.08.2001	500
DMH + AAS	61	460	480	490	490	500	490	500	520	28.08.2001	520
DMH + AAS	62	430	430	440	450	460	470	470	480	21.08.2001	500
DMH + AAS	63	430	430	430	460	450	450	460	460	21.08.2001	480
DMH + AAS	64	520	540	550	560	560	580	580	580	21.08.2001	610
DMH + AAS	65	510	540	550	560	560	590	590	580	21.08.2001	605
DMH + RFC	66	430	440	440	440	450	470	460	480	30.05.2001	475
DMH + RFC	67	370	380	400	410	410	430	430	440	30.05.2001	450
DMH + RFC	68	400	410	390	370	350	390	390	400	30.05.2001	400
DMH + RFC	69	460	470	470	470	470	490	490	490	30.05.2001	490
DMH + RFC	70	375	380	380	380	370	380	380	380	30.05.2001	400
DMH + RFC	71	420	430	430	430	430	430	440	440	30.05.2001	440
DMH + RFC	72	390	410	410	410	400	450	465	470	30.05.2001	480
DMH + RFC	73	370	380	370	370	370	380	390	400	30.05.2001	380
DMH + RFC	74	400	420	420	410	410	420	430	430	30.05.2001	450
DMH + RFC	75	360	380	380	380	380	390	390	400	30.05.2001	410

Tabla XII: Dosis semanal de carcinógeno administrado, según el peso del animal.

OFA	PESO1	DOSIS1	PESO2	DOSIS2	PESO3	DOSIS3	PESO4	DOSIS4	PESO5	DOSIS5	PESO6	DOSIS6
46	165	0,4	210	0,55	260	0,65	290	0,75	320	0,8	325	0,8
47	165	0,4	200	0,5	250	0,65	280	0,7	325	0,8	340	0,85
48	170	0,45	230	0,6	270	0,7	298	0,75	320	0,8	350	0,9
49	180	0,45	230	0,6	275	0,7	310	0,8	325	0,8	365	0,9
50	180	0,45	230	0,6	275	0,7	308	0,8	340	0,85	350	0,9
51	175	0,45	200	0,5	265	0,65	310	0,8	340	0,85	370	0,95
52	175	0,45	220	0,55	275	0,7	300	0,75	330	0,85	350	0,9
53	185	0,5	220	0,55	270	0,7	290	0,75	320	0,8	330	0,85
54	155	0,4	220	0,55	280	0,7	310	0,8	340	0,85	360	0,9
55	180	0,45	200	0,5	250	0,65	280	0,7	320	0,8	330	0,85
56	300	0,75	320	0,8	340	0,85	380	0,95	450	1,15	450	1,2
57	310	0,8	340	0,85	360	0,9	380	0,95	400	1	410	1,05
58	350	0,9	370	0,95	380	0,95	400	1	420	1,05	390	1
59	300	0,75	330	0,85	340	0,85	390	1	400	1	410	1,05
60	350	0,9	380	0,95	400	1	450	1,15	480	1,2	470	1,2
61	310	0,8	330	0,85	330	0,85	380	0,95	420	1,05	430	1,1
62	320	0,8	330	0,85	370	0,95	390	1	400	1	400	1
63	330	0,85	340	0,85	360	0,9	380	0,95	390	1	420	1,05
64	400	1	410	1,05	440	1,1	480	1,2	500	1,25	510	1,3
65	395	1	400	1	450	1,15	500	1,25	530	1,35	560	1,4
66	160	0,4	190	0,5	190	0,5	270	0,7	310	0,8	330	0,85
67	170	0,45	190	0,5	180	0,45	290	0,75	300	0,75	320	0,8
68	170	0,45	180	0,45	190	0,5	280	0,7	320	0,8	345	0,8
69	160	0,4	190	0,5	190	0,5	290	0,75	320	0,8	360	0,9
70	170	0,45	180	0,45	200	0,5	290	0,75	310	0,8	315	0,8
71	170	0,45	185	0,45	160	0,4	270	0,7	280	0,75	300	0,75
72	160	0,4	180	0,45	180	0,45	240	0,6	300	0,75	320	0,8
73	170	0,45	185	0,45	170	0,45	260	0,65	310	0,8	330	0,85
74	170	0,45	190	0,5	180	0,45	270	0,7	290	0,75	310	0,8
75	160	0,4	200	0,5	190	0,5	290	0,75	320	0,8	350	0,9

TABLA XII (Continuación)

OFA	PESO7	DOSIS7	PESO8	DOSIS8	PESO9	DOSIS9	PESO10	DOSIS10	PESO11	DOSIS11	PESO12	DOSIS12
46	330	0,85	350	0,9	360	0,9	370	0,95	370	0,95	370	0,95
47	350	0,9	365	0,9	380	0,95	390	1	390	1	400	1
48	360	0,9	370	0,95	380	0,95	420	1,05	410	1,05	400	1
49	370	0,95	370	0,95	380	0,95	370	0,95	385	0,95	400	1
50	360	0,9	390	1	395	0,95	420	1,05	430	1,1	430	1,1
51	370	0,95	390	1	400	1	370	0,95	390	1	370	0,95
52	360	0,9	380	0,95	385	0,95	415	1,05	340	0,85	370	0,95
53	340	0,85	355	0,9	360	0,9	370	0,95	366	0,95	380	0,95
54	360	0,9	370	0,95	380	0,95	350	0,9	370	0,95	390	1
55	350	0,9	350	0,9	360	0,9	350	0,9	340	0,85	370	0,95
56	460	1,15	470	1,2	480	1,2	495	1,25	490	1,25	490	1,25
57	420	1,05	440	1,1	450	1,1	450	1,1	450	1,1	460	1,15
58	390	1	410	1,05	410	1,05	415	1,05	430	1,1	420	1,05
59	420	1,05	440	1,1	440	1,1	465	1,15	470	1,2	480	1,2
60	470	1,2	470	1,2	460	1,15	500	1,25	470	1,2	480	1,2
61	420	1,05	420	1,05	420	1,05	450	1,15	460	1,15	480	1,2
62	400	1	420	1,05	420	1,05	430	1,1	430	1,1	430	1,05
63	410	1,05	410	1,05	420	1,05	430	1,1	430	1,1	430	1,05
64	500	1,25	500	1,25	500	1,25	500	1,25	520	1,3	540	1,35
65	560	1,4	560	1,4	550	1,4	500	1,25	510	1,3	540	1,35
66	340	0,85	360	0,9	390	1	400	1	430	1,1	440	1,1
67	340	0,85	350	0,9	350	0,9	360	0,9	370	0,95	380	0,95
68	370	0,95	380	0,95	370	0,95	375	0,95	400	1	410	1,05
69	390	1	410	1,05	430	1,1	420	1,1	460	1,15	470	1,2
70	340	0,85	340	0,85	350	0,9	350	0,9	375	0,95	380	0,95
71	320	0,8	320	0,8	380	0,95	400	1	420	1,1	430	1,1
72	340	0,85	340	0,85	360	0,9	360	0,9	390	1	410	1,05
73	350	0,9	330	0,85	340	0,85	370	0,95	370	0,95	380	0,95
74	360	0,9	340	0,85	380	0,95	385	0,95	400	1	420	1,05
75	330	0,85	370	0,95	340	0,85	370	0,95	360	0,9	380	0,95

TABLA XI (Continuación 2)

OFA	PESO13	DOSIS13	PESO14	DOSIS14	PESO15	DOSIS15	PESO16	DOSIS16	PESO17	DOSIS17	PESO18	DOSIS18
46	370	0,95	380	0,95	400	1	410	1,05	410	1,05	405	1
47	400	1	410	1,05	430	1,1	440	1,1	430	1,1	440	1,1
48	400	1	410	1,05	440	1,1	440	1,1	430	1,1	450	1,15
49	410	1,05	430	1,1	450	1,15	450	1,15	450	1,15	450	1,15
50	435	1,1	445	1,15	470	1,2	480	1,2	470	1,2	480	1,2
51	410	1,05	420	1,05	460	1,15	475	1,2	470	1,2	480	1,2
52	375	0,95	380	0,95	400	1	400	1	470	1,2	370	0,95
53	380	0,95	400	1	420	1,05	430	1,1	420	1,05	420	1,05
54	390	1	400	1	440	1,1	440	1,1	435	1,1	430	1,1
55	365	0,9	375	0,95	400	1	415	1,05	420	1,05	430	1,1
56	510	1,3	500	1,25	510	1,3	510	1,3	500	1,25	470	1,2
57	480	1,2	470	1,2	430	1,1	430	1,1	440	1,1	460	1,15
58	500	1,25	500	1,25	500	1,25	500	1,25	500	1,25	500	1,25
59	430	1,1	430	1,05	450	1,15	440	1,1	440	1,1	460	1,15
60	500	1,25	500	1,25	510	1,3	490	1,25	490	1,25	500	1,25
61	490	1,25	490	1,25	500	1,25	490	1,25	500	1,25	520	1,3
62	440	1,1	450	1,15	460	1,15	470	1,2	470	1,2	480	1,2
63	430	1,05	460	1,15	450	1,15	450	1,15	460	1,15	460	1,15
64	550	1,4	560	1,4	560	1,4	580	1,45	580	1,45	580	1,45
65	550	1,4	560	1,4	560	1,4	590	1,5	590	1,5	580	1,45
66	440	1,1	440	1,1	450	1,15	470	1,2	460	1,15	480	1,2
67	400	1	410	1,05	410	1,05	430	1,1	430	1,1	440	1,1
68	390	0,95	370	0,95	350	0,9	390	0,95	390	1	400	1
69	470	1,2	470	1,2	470	1,2	490	1,25	490	1,25	490	1,25
70	380	0,95	380	0,95	370	0,95	380	0,95	380	0,95	380	0,95
71	430	1,1	430	1,1	430	1,1	430	1,1	440	1,1	440	1,1
72	410	1,05	410	1,05	400	1	450	1,15	465	1,15	470	1,2
73	370	0,95	370	0,95	370	0,95	380	0,95	390	1	400	1
74	420	1,05	410	1,05	410	1,05	420	1,05	430	1,1	430	1,1
75	380	0,95	380	0,95	380	0,95	390	0,95	390	1	400	1

Tabla XIII: Parámetros macroscópicos.

GRUPO	OFA	N	ST	AC	LC	SC	PST
DMH	46	1	9	6,2	140	868	1,03
DMH	47	1	12	6,7	120	804	1,5
DMH	48	2	36,5	6,5	125	812,5	4,5
DMH	49	3	43,5	7	135	945	4,6
DMH	50	1	24	7,3	135	985,5	2,43
DMH	51	4	206,5	7,3	165	1204,5	17,14
DMH	52	3	44,25	7,4	145	1073	4,12
DMH	53	2	25	7,2	145	1044	2,58
DMH	54	3	16,5	7,3	135	985,5	1,67
DMH	55	2	43,25	7,4	145	1073	4,03
DMH + AAS	56	1	52,5	6,8	185	1258	4,17
DMH + AAS	57	2	41,25	6,5	150	975	4,23
DMH + AAS	58	3	106,5	7,1	150	1065	10
DMH + AAS	59	0	0	6	150	900	0
DMH + AAS	60	0	0	6,3	165	1039,5	0
DMH + AAS	61	2	14,75	6,1	160	976	1,51
DMH + AAS	62	3	43,5	6,2	170	1054	4,12
DMH + AAS	63	0	0	6,2	165	1023	0
DMH + AAS	64	1	54	6,6	170	1122	4,81
DMH + AAS	65	3	97,5	7,6	170	1292	7,54
DMH + RFC	66	2	40	6,6	200	1320	3,03
DMH + RFC	67	1	49	7,4	160	1184	4,13
DMH + RFC	68	1	12	7,8	170	1326	0,9
DMH + RFC	69	2	5,5	6,2	180	1116	0,49
DMH + RFC	70	1	3	7	140	980	0,3
DMH + RFC	71	2	7,5	6,8	150	1020	0,73
DMH + RFC	72	2	18	6,6	130	858	2,09
DMH + RFC	73	2	20	7,6	170	1292	1,54
DMH + RFC	74	1	6	7,9	180	1422	0,42
DMH + RFC	75	1	6	6,9	130	897	0,66

Tabla XIV: Resumen de los parámetros macroscópicos.

GRUPO	N	ST	AC	LC	SC	PST
DMH	2,2	46,05	7,03	139	979,5	4,36
DMH + AAS	1,5	41	5,92	163	1070,45	3,64
DMH + RFC	1,5	16,7	7,08	161	1141,5	1,43

Tabla XV: Resultados microscópicos de los adenomas.

GRUPO	OFA	Nº ADN	STB	PSTB
DMH	46	1	0,30	3,45
DMH	48	2	0,10	1,23
DMH	50	3	0,07	0,71
DMH	50	4	0,17	0,71
DMH	52	5	0,50	4,65
DMH	52	6	0,70	6,52
DMH	52	7	0,60	5,59
DMH	53	8	0,20	1,91
DMH	54	9	0,03	0,28
DMH	55	10	0,60	5,59
DMH + AAS	56	1	0,40	3,17
DMH + AAS	57	2	0,02	0,20
DMH + AAS	59	3	0,02	0,22
DMH + AAS	62	4	1,00	9,48
DMH + AAS	63	5	0,16	1,46
DMH + AAS	64	6	0,10	0,89
DMH + AAS	65	7	0,60	4,64
DMH + AAS	65	8	0,01	0,08
DMH + RFC	69	1	0,10	0,89
DMH + RFC	70	2	0,20	1,79
DMH + RFC	71	3	0,40	3,92
DMH + RFC	71	4	0,02	0,19
DMH + RFC	72	5	0,01	0,13
DMH + RFC	72	6	0,10	1,16
DMH + RFC	73	7	0,30	2,32
DMH + RFC	73	8	0,25	1,93
DMH + RFC	75	9	0,10	1,11

Tabla XVI: Resultados microscópicos de los adenocarcinomas.

GRUPO	OFA	Nº ADC	STM	PSTM	GRADO	INVASIÓN
DMH	46	1	0,30	3,45	MD	SUBMUCOSA
DMH	48	2	0,50	6,16	PD	MUSCULAR
DMH	48	3	0,10	1,23	BD	IN SITU
DMH	49	4	0,09	0,95	BD	IN SITU
DMH	49	5	0,30	3,17	PD	MUSCULAR
DMH	51	6	0,40	3,32	BD	SUBMUCOSA
DMH	51	7	0,80	6,64	PD	SUBMUCOSA
DMH	51	8	0,90	7,47	PD	SUBMUCOSA
DMH	52	9	0,70	6,52	PD	MUSCULAR
DMH	53	10	0,20	1,92	MD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	56	1	0,05	0,36	PD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	56	2	0,08	0,63	BD	IN SITU
DMH + AAS	56	3	0,50	3,97	MD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	56	4	0,11	0,87	BD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	58	5	0,05	0,47	BD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	58	6	1,00	9,39	BD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	59	7	0,15	1,66	BD	LÁMINA PROPIA
DMH + AAS	62	8	0,40	3,79	MD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	62	9	0,08	0,76	BD	IN SITU
DMH + AAS	63	10	0,25	2,44	BD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	64	11	0,50	4,45	PD	MUSCULAR
DMH + AAS	65	12	0,42	3,25	BD	SUBMUCOSA
DMH + AAS	65	13	0,80	6,19	BD	IN SITU
DMH + RFC	66	1	0,55	4,16	PD	SUBMUCOSA
DMH + RFC	68	2	0,40	3,01	MD	SUBMUCOSA
DMH + RFC	68	3	0,10	0,75	BD	SUBMUCOSA
DMH + RFC	69	4	0,02	0,18	BD	IN SITU
DMH + RFC	71	5	0,13	1,27	BD	IN SITU
DMH + RFC	73	6	0,03	0,23	BD	IN SITU
DMH + RFC	75	7	0,10	1,11	PD	SUBSEROSA

Tabla XVII: Resultados microscópicos de todos los tumores.

GRUPO	OFA	TUMOR	ORDEN	STT	PSTT
DMH	46	AND	1	0,30	3,45
DMH	46	ADC	2	0,30	3,45
DMH	48	And	3	0,10	1,23
DMH	48	ADC	4	0,10	1,23
DMH	48	ADC	5	0,50	6,16
DMH	49	ADC	6	0,09	0,95
DMH	49	ADC	17	0,30	3,17
DMH	50	And	18	0,07	0,71
DMH	50	And	19	0,17	0,71
DMH	51	ADC	10	0,40	3,32
DMH	51	ADC	11	0,80	6,64
DMH	51	ADC	12	0,90	7,47
DMH	52	And	13	0,50	4,65
DMH	52	And	14	0,60	5,59
DMH	52	And	15	0,70	6,52
DMH	52	ADC	16	0,70	6,52
DMH	53	And	17	0,20	1,91
DMH	53	ADC	18	0,20	1,91
DMH	54	And	19	0,03	0,28
DMH	55	And	20	0,60	5,59
DMH + AAS	56	And	1	0,40	3,17
DMH + AAS	56	ADC	2	0,05	0,36
DMH + AAS	56	ADC	3	0,08	0,63
DMH + AAS	56	ADC	4	0,50	3,97
DMH + AAS	56	ADC	5	0,11	0,87
DMH + AAS	57	And	6	0,02	0,20
DMH + AAS	58	ADC	7	0,05	0,47
DMH + AAS	58	ADC	8	1,00	9,39
DMH + AAS	59	And	9	0,02	0,22
DMH + AAS	59	ADC	10	0,15	1,66
DMH + AAS	62	And	11	1,00	9,48
DMH + AAS	62	ADC	12	0,40	3,79
DMH + AAS	62	ADC	13	0,08	0,76
DMH + AAS	63	AND	14	0,16	1,46

DMH + AAS	63	ADC	15	0,25	2,44
DMH + AAS	64	And	16	0,10	0,89
DMH + AAS	64	ADC	17	0,50	4,45
DMH + AAS	65	And	18	0,60	4,64
DMH + AAS	65	And	19	0,01	0,08
DMH + AAS	65	ADC	20	0,42	3,25
DMH + AAS	65	ADC	21	0,80	6,19
DMH + RFC	66	ADC	1	0,55	4,16
DMH + RFC	68	ADC	2	0,40	3,01
DMH + RFC	68	ADC	3	0,10	0,75
DMH + RFC	69	And	4	0,10	0,89
DMH + RFC	69	ADC	5	0,02	0,18
DMH + RFC	70	And	6	0,20	1,79
DMH + RFC	71	And	7	0,40	3,92
DMH + RFC	71	And	8	0,02	0,19
DMH + RFC	71	ADC	9	0,13	1,27
DMH + RFC	72	And	10	0,01	0,13
DMH + RFC	72	And	11	0,10	1,16
DMH + RFC	73	And	12	0,30	2,32
DMH + RFC	73	And	13	0,25	1,93
DMH + RFC	73	ADC	14	0,03	0,23
DMH + RFC	75	And	15	0,10	1,11
DMH + RFC	75	ADC	16	0,10	1,11

Tabla XVIII: Resumen de los parámetros microscópicos.

GRUPO	ADN	STB	PSTB	ADC	STM	PSTM	N	STT	PSTT
CONTROL	10	0,327	3,064	10	0,429	4,083 *	20	0,378 *	3,573 *
AAS	8	0,288	2,517	13	0,337	2,940	21	0,318	2,779
ROFECOXIB	9	0,164	1,493	7	0,190	1,530 *	16	0,175 *	1,509 *

Tabla XIX: Anova de dos colas para adenomas.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) GRUPO	(J) GRUPO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
SUPMACRO	Scheffe	1	2	6.250E-02	.098	.816	-.1921	.3171
			3	9.444E-02	.095	.613	-.1522	.3411
		2	1	-6.250E-02	.098	.816	-.3171	.1921
			3	3.194E-02	.100	.950	-.2289	.2928
		3	1	-9.444E-02	.095	.613	-.3411	.1522
			2	-3.194E-02	.100	.950	-.2928	.2289
	LSD	1	2	6.250E-02	.098	.528	-.1389	.2639
			3	9.444E-02	.095	.328	-.1007	.2896
		2	1	-6.250E-02	.098	.528	-.2639	.1389
			3	3.194E-02	.100	.752	-.1744	.2383
		3	1	-9.444E-02	.095	.328	-.2896	.1007
			2	-3.194E-02	.100	.752	-.2383	.1744
SUPMICRO	Scheffe	1	2	3.825E-02	.122	.952	-.2806	.3571
			3	.1623	.118	.405	-.1466	.4712
		2	1	-3.825E-02	.122	.952	-.3571	.2806
			3	.1241	.125	.618	-.2026	.4508
		3	1	-.1623	.118	.405	-.4712	.1466
			2	-.1241	.125	.618	-.4508	.2026
	LSD	1	2	3.825E-02	.122	.757	-.2140	.2905
			3	.1623	.118	.183	-8.205E-02	.4067
		2	1	-3.825E-02	.122	.757	-.2905	.2140
			3	.1241	.125	.332	-.1344	.3825
		3	1	-.1623	.118	.183	-.4067	8.205E-02
			2	-.1241	.125	.332	-.3825	.1344
PORMACRO	Scheffe	1	2	1.1270	.970	.519	-1.4037	3.6577
			3	1.2442	.940	.429	-1.2071	3.6956
		2	1	-1.1270	.970	.519	-3.6577	1.4037
			3	.1172	.994	.993	-2.4752	2.7097
		3	1	-1.2442	.940	.429	-3.6956	1.2071
			2	-.1172	.994	.993	-2.7097	2.4752
	LSD	1	2	1.1270	.970	.257	-.8752	3.1292
			3	1.2442	.940	.198	-.6952	3.1836
		2	1	-1.1270	.970	.257	-3.1292	.8752
			3	.1172	.994	.907	-1.9338	2.1682
		3	1	-1.2442	.940	.198	-3.1836	.6952
			2	-.1172	.994	.907	-2.1682	1.9338
PORMICRO	Scheffe	1	2	.5465	1.128	.890	-2.3959	3.4889
			3	1.5707	1.093	.371	-1.2795	4.4208
		2	1	-.5465	1.128	.890	-3.4889	2.3959
			3	1.0242	1.155	.679	-1.9900	4.0383
		3	1	-1.5707	1.093	.371	-4.4208	1.2795
			2	-1.0242	1.155	.679	-4.0383	1.9900
	LSD	1	2	.5465	1.128	.632	-1.7813	2.8743
			3	1.5707	1.093	.163	-.6842	3.8255
		2	1	-.5465	1.128	.632	-2.8743	1.7813
			3	1.0242	1.155	.384	-1.3605	3.4088
		3	1	-1.5707	1.093	.163	-3.8255	.6842
			2	-1.0242	1.155	.384	-3.4088	1.3605

Tabla XX: Anova de dos colas para adenocarcinomas.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) GRUPO	(J) GRUPO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
SUPMICRO	Tukey HSD	1	2	9,169E-02	,1175	,718	-,1997	,3831
			3	,2390	,1377	,211	-,1024	,5804
		2	1	-9,169E-02	,1175	,718	-,3831	,1997
			3	,1473	,1310	,508	-,1774	,4720
		3	1	-,2390	,1377	,211	-,5804	,1024
			2	-,1473	,1310	,508	-,4720	,1774
	Scheffe	1	2	9,169E-02	,1175	,740	-,2127	,3961
			3	,2390	,1377	,240	-,1176	,5956
		2	1	-9,169E-02	,1175	,740	-,3961	,2127
			3	,1473	,1310	,539	-,1919	,4865
		3	1	-,2390	,1377	,240	-,5956	,1176
			2	-,1473	,1310	,539	-,4865	,1919
	LSD	1	2	9,169E-02	,1175	,442	-,1494	,3328
			3	,2390	,1377	,094	-4,35E-02	,5215
		2	1	-9,169E-02	,1175	,442	-,3328	,1494
			3	,1473	,1310	,271	-,1214	,4160
		3	1	-,2390	,1377	,094	-,5215	4,349E-02
			2	-,1473	,1310	,271	-,4160	,1214
	Bonferroni	1	2	9,169E-02	,1175	1,000	-,2083	,3916
			3	,2390	,1377	,282	-,1124	,5904
		2	1	-9,169E-02	,1175	1,000	-,3916	,2083
			3	,1473	,1310	,812	-,1870	,4816
		3	1	-,2390	,1377	,282	-,5904	,1124
			2	-,1473	,1310	,812	-,4816	,1870
PORMICRO	Tukey HSD	1	2	1,1422	,9965	,495	-1,3284	3,6129
			3	2,5530	1,1675	,092	-,3416	5,4476
		2	1	-1,1422	,9965	,495	-3,6129	1,3284
			3	1,4108	1,1106	,424	-1,3429	4,1644
		3	1	-2,5530	1,1675	,092	-5,4476	,3416
			2	-1,4108	1,1106	,424	-4,1644	1,3429
	Scheffe	1	2	1,1422	,9965	,526	-1,4386	3,7231
			3	2,5530	1,1675	,111	-,4708	5,5768
		2	1	-1,1422	,9965	,526	-3,7231	1,4386
			3	1,4108	1,1106	,457	-1,4657	4,2873
		3	1	-2,5530	1,1675	,111	-5,5768	,4708
			2	-1,4108	1,1106	,457	-4,2873	1,4657
	LSD	1	2	1,1422	,9965	,262	-,9023	3,1868
			3	2,5530*	1,1675	,038	,1576	4,9484
		2	1	-1,1422	,9965	,262	-3,1868	,9023
			3	1,4108	1,1106	,215	-,8680	3,6895
		3	1	-2,5530*	1,1675	,038	-4,9484	-,1576
			2	-1,4108	1,1106	,215	-3,6895	,8680
	Bonferroni	1	2	1,1422	,9965	,785	-1,4012	3,6856
			3	2,5530	1,1675	,113	-,4269	5,5329
		2	1	-1,1422	,9965	,785	-3,6856	1,4012
			3	1,4108	1,1106	,644	-1,4240	4,2455
		3	1	-2,5530	1,1675	,113	-5,5329	,4269
			2	-1,4108	1,1106	,644	-4,2455	1,4240

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla XXI: Anova de dos colas para todos los tumores.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) GRUPO	(J) GRUPO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
SUPMICRO	Tukey HSD	1	2	5,919E-02	8,253E-02	,754	-,1397	,2581
			3	,2023	8,859E-02	,067	-1,13E-02	,4158
		2	1	-5,919E-02	8,253E-02	,754	-,2581	,1397
			3	,1431	8,765E-02	,241	-6,82E-02	,3543
		3	1	-,2023	8,859E-02	,067	-,4158	1,126E-02
			2	-,1431	8,765E-02	,241	-,3543	6,818E-02
	Scheffe	1	2	5,919E-02	8,253E-02	,774	-,1486	,2669
			3	,2023	8,859E-02	,083	-2,08E-02	,4253
		2	1	-5,919E-02	8,253E-02	,774	-,2669	,1486
			3	,1431	8,765E-02	,273	-7,76E-02	,3637
		3	1	-,2023	8,859E-02	,083	-,4253	2,076E-02
			2	-,1431	8,765E-02	,273	-,3637	7,758E-02
	LSD	1	2	5,919E-02	8,253E-02	,476	-,1063	,2246
			3	,2023*	8,859E-02	,026	2,463E-02	,3799
		2	1	-5,919E-02	8,253E-02	,476	-,2246	,1063
			3	,1431	8,765E-02	,108	-3,27E-02	,3188
		3	1	-,2023*	8,859E-02	,026	-,3799	-2,46E-02
			2	-,1431	8,765E-02	,108	-,3188	3,267E-02
	Bonferroni	1	2	5,919E-02	8,253E-02	1,000	-,1447	,2631
			3	,2023	8,859E-02	,079	-1,67E-02	,4212
		2	1	-5,919E-02	8,253E-02	1,000	-,2631	,1447
			3	,1431	8,765E-02	,325	-7,35E-02	,3596
		3	1	-,2023	8,859E-02	,079	-,4212	1,665E-02
			2	-,1431	8,765E-02	,325	-,3596	7,352E-02
PORMMICR	Tukey HSD	1	2	,7940	,7282	,524	-,9609	2,5489
			3	2,0641*	,7817	,029	,1802	3,9480
		2	1	-,7940	,7282	,524	-2,5489	,9609
			3	1,2701	,7734	,237	-,5937	3,1340
		3	1	-2,0641*	,7817	,029	-3,9480	-,1802
			2	-1,2701	,7734	,237	-3,1340	,5937
	Scheffe	1	2	,7940	,7282	,555	-1,0390	2,6269
			3	2,0641*	,7817	,038	9,640E-02	4,0319
		2	1	-,7940	,7282	,555	-2,6269	1,0390
			3	1,2701	,7734	,268	-,6766	3,2169
		3	1	-2,0641*	,7817	,038	-4,0319	-9,64E-02
			2	-1,2701	,7734	,268	-3,2169	,6766
	LSD	1	2	,7940	,7282	,280	-,6659	2,2539
			3	2,0641*	,7817	,011	,4969	3,6313
		2	1	-,7940	,7282	,280	-2,2539	,6659
			3	1,2701	,7734	,106	-,2804	2,8207
		3	1	-2,0641*	,7817	,011	-3,6313	-,4969
			2	-1,2701	,7734	,106	-2,8207	,2804
	Bonferroni	1	2	,7940	,7282	,841	-1,0052	2,5932
			3	2,0641*	,7817	,032	,1327	3,9956
		2	1	-,7940	,7282	,841	-2,5932	1,0052
			3	1,2701	,7734	,319	-,6408	3,1811
		3	1	-2,0641*	,7817	,032	-3,9956	-,1327
			2	-1,2701	,7734	,319	-3,1811	,6408

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla XXIV: Expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

GRUPO	OFA	Nº ADN	TEJ. NORMAL	TINCIÓN	TEJ. TUMORAL	TINCIÓN	TOTAL
DMH	46	1	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	48	2	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	50	3	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH	50	4	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	52	5	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	52	6	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	52	7	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	53	8	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH	54	9	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH	55	10	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	56	1	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	57	2	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	59	3	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	62	4	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	63	5	0	NEGATIVA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	64	6	0	NEGATIVA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	65	7	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	65	8	0	NEGATIVA	1	GOBLET	1
DMH + RFC	69	1	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	70	2	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	71	3	1	GOBLET	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	71	4	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	72	5	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	72	6	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	73	7	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	73	8	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	75	9	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0

Tabla XXV: Expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.

GRUPO	OFA	Nº ADC	TEJ. NORMAL	TINCIÓN	TEJ. TUMORAL	TINCIÓN	TOTAL
DMH	46	1	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	48	2	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	48	3	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	49	4	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH	49	5	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	51	6	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH	51	7	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	51	8	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	52	9	0	NEGATIVA	1	RIBETE	1
DMH	53	10	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	56	1	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	56	2	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	56	3	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	56	4	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	58	5	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	58	6	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + AAS	59	7	1	ESTROMAL	0	NEGATIVA	1
DMH + AAS	62	8	0	NEGATIVA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	62	9	0	NEGATIVA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	63	10	1	CITOPLÁSMICA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	64	11	1	CITOPLÁSMICA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	65	12	1	CITOPLÁSMICA	1	GOBLET	1
DMH + AAS	65	13	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	66	1	1	EPITELIAL	1	GOBLET	1
DMH + RFC	68	2	1	EPITELIAL	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	68	3	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	69	4	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	71	5	1	CITOPLÁSMICA	0	NEGATIVA	1
DMH + RFC	73	6	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0
DMH + RFC	75	7	0	NEGATIVA	0	NEGATIVA	0

Tabla XXVI: Resumen de la expresión de la actividad COX-2 en los adenomas.

GRUPO	TEJ. NORMAL	TEJ. TUMORAL	TOTAL
DMH	0,100	0,600 *	0,700 *
DMH + AAS	0,250	0,375	0,625
DMH + RFC	0,222	0,000 *	0,222 *

Tabla XXVII: Resumen de la expresión de la actividad COX-2 en los adenocarcinomas.

GRUPO	TEJ. NORMAL	TEJ. TUMORAL	TOTAL
DMH	0,100 *	0,700 *	0,800
DMH + AAS	0,692 *	0,384	0,846
DMH + RFC	0,571 *	0,142 *	0,571

Tabla XXVIII: Anova de expresión de la actividad COX-2 en adenomas.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) GRUPO	(J) GRUPO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
COXMUNO	Tukey HSD	1	2	-.15	.19	.719	-.63	.33
			3	-.12	.19	.791	-.59	.34
		2	1	.15	.19	.719	-.33	.63
			3	2,78E-02	.20	.989	-.46	.52
		3	1	.12	.19	.791	-.34	.59
			2	-2,78E-02	.20	.989	-.52	.46
	Scheffe	1	2	-.15	.19	.741	-.65	.35
			3	-.12	.19	.808	-.61	.36
		2	1	.15	.19	.741	-.35	.65
			3	2,78E-02	.20	.990	-.49	.54
		3	1	.12	.19	.808	-.36	.61
			2	-2,78E-02	.20	.990	-.54	.49
	LSD	1	2	-.15	.19	.444	-.55	.25
			3	-.12	.19	.519	-.51	.26
		2	1	.15	.19	.444	-.25	.55
			3	2,78E-02	.20	.889	-.38	.43
		3	1	.12	.19	.519	-.26	.51
			2	-2,78E-02	.20	.889	-.43	.38
	Bonferroni	1	2	-.15	.19	1,000	-.65	.35
			3	-.12	.19	1,000	-.60	.36
		2	1	.15	.19	1,000	-.35	.65
			3	2,78E-02	.20	1,000	-.48	.54
		3	1	.12	.19	1,000	-.36	.60
			2	-2,78E-02	.20	1,000	-.54	.48
COXMUTU	Tukey HSD	1	2	.22	.20	.509	-.27	.72
			3	.60*	.19	.013	.12	1.08
		2	1	-.22	.20	.509	-.72	.27
			3	.38	.21	.182	-.14	.89
		3	1	-.60*	.19	.013	-1.08	-.12
			2	-.38	.21	.182	-.89	.14
	Scheffe	1	2	.22	.20	.540	-.30	.75
			3	.60*	.19	.018	9,41E-02	1.11
		2	1	-.22	.20	.540	-.75	.30
			3	.38	.21	.209	-.16	.91
		3	1	-.60*	.19	.018	-1.11	-9,41E-02
			2	-.38	.21	.209	-.91	.16
	LSD	1	2	.22	.20	.272	-.19	.64
			3	.60*	.19	.005	.20	1.00
		2	1	-.22	.20	.272	-.64	.19
			3	.38	.21	.080	-4,83E-02	.80
		3	1	-.60*	.19	.005	-1.00	-.20
			2	-.38	.21	.080	-.80	4,83E-02
	Bonferroni	1	2	.22	.20	.817	-.29	.74
			3	.60*	.19	.015	.10	1.10
		2	1	-.22	.20	.817	-.74	.29
			3	.38	.21	.240	-.15	.90
		3	1	-.60*	.19	.015	-1.10	-.10
			2	-.38	.21	.240	-.90	.15
COXGLOB	Tukey HSD	1	2	7,50E-02	.23	.942	-.49	.64
			3	.48	.22	.098	-7,30E-02	1.03
		2	1	-7,50E-02	.23	.942	-.64	.49
			3	.40	.23	.216	-.18	.99
		3	1	-.48	.22	.098	-1.03	7,30E-02
			2	-.40	.23	.216	-.99	.18
	Scheffe	1	2	7,50E-02	.23	.947	-.52	.67
			3	.48	.22	.117	-9,76E-02	1.05
		2	1	-7,50E-02	.23	.947	-.67	.52
			3	.40	.23	.245	-.21	1.01
		3	1	-.48	.22	.117	-1.05	9,76E-02
			2	-.40	.23	.245	-1.01	.21
	LSD	1	2	7,50E-02	.23	.745	-.39	.54
			3	.48*	.22	.040	2,26E-02	.93
		2	1	-7,50E-02	.23	.745	-.54	.39
			3	.40	.23	.097	-7,86E-02	.88
		3	1	-.48*	.22	.040	-.93	-2,26E-02
			2	-.40	.23	.097	-.88	7,86E-02
	Bonferroni	1	2	7,50E-02	.23	1,000	-.51	.66
			3	.48	.22	.121	-8,99E-02	1.05
		2	1	-7,50E-02	.23	1,000	-.66	.51
			3	.40	.23	.291	-.20	1.00
		3	1	-.48	.22	.121	-1.05	8,99E-02
			2	-.40	.23	.291	-1.00	.20

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla XXIX: Anova de la expresión de la actividad COX-2 en adenocarcinomas.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) GRUPO	(J) GRUPO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
COXMUNO	Tukey HSD	1	2	,59*	,19	,011	-1,06	-,13
			3	-,47	,22	,100	-1,02	7,42E-02
		2	1	,59*	,19	,011	,13	1,06
			3	,12	,21	,833	-,40	,64
		3	1	,47	,22	,100	-7,42E-02	1,02
			2	-,12	,21	,833	-,64	,40
	Scheffe	1	2	-,59*	,19	,015	-1,08	-,11
			3	-,47	,22	,120	-1,04	9,85E-02
		2	1	,59*	,19	,015	,11	1,08
			3	,12	,21	,847	-,42	,66
		3	1	,47	,22	,120	-9,85E-02	1,04
			2	-,12	,21	,847	-,66	,42
	LSD	1	2	-,59*	,19	,004	-,98	-,21
			3	-,47*	,22	,041	-,92	-1,99E-02
		2	1	,59*	,19	,004	,21	,98
			3	,12	,21	,568	-,31	,55
		3	1	,47*	,22	,041	1,99E-02	,92
			2	-,12	,21	,568	-,55	,31
	Bonferroni	1	2	-,59*	,19	,012	-1,07	-,11
			3	-,47	,22	,124	-1,03	9,02E-02
		2	1	,59*	,19	,012	,11	1,07
			3	,12	,21	1,000	-,41	,66
		3	1	,47	,22	,124	-9,02E-02	1,03
			2	-,12	,21	1,000	-,66	,41
COXMUTU	Tukey HSD	1	2	,32	,20	,269	-,18	,81
			3	,56	,23	,060	-2,05E-02	1,13
		2	1	-,32	,20	,269	-,81	,18
			3	,24	,22	,528	-,31	,79
		3	1	-,56	,23	,060	-1,13	2,05E-02
			2	-,24	,22	,528	-,79	,31
	Scheffe	1	2	,32	,20	,300	-,20	,83
			3	,56	,23	,075	-4,63E-02	1,16
		2	1	-,32	,20	,300	-,83	,20
			3	,24	,22	,559	-,33	,82
		3	1	-,56	,23	,075	-1,16	4,63E-02
			2	-,24	,22	,559	-,82	,33
	LSD	1	2	,32	,20	,124	-9,26E-02	,72
			3	,56*	,23	,024	7,91E-02	1,04
		2	1	-,32	,20	,124	-,72	9,26E-02
			3	,24	,22	,285	-,21	,70
		3	1	-,56*	,23	,024	-1,04	-7,91E-02
			2	-,24	,22	,285	-,70	,21
	Bonferroni	1	2	,32	,20	,373	-,19	,82
			3	,56	,23	,072	-3,75E-02	1,15
		2	1	-,32	,20	,373	-,82	,19
			3	,24	,22	,855	-,32	,81
		3	1	-,56	,23	,072	-1,15	3,75E-02
			2	-,24	,22	,855	-,81	,32
COXGLOB	Tukey HSD	1	2	-4,62E-02	,18	,965	-,50	,40
			3	,23	,21	,536	-,30	,75
		2	1	4,62E-02	,18	,965	-,40	,50
			3	,27	,20	,375	-,23	,78
		3	1	-,23	,21	,536	-,75	,30
			2	-,27	,20	,375	-,78	,23
	Scheffe	1	2	-4,62E-02	,18	,968	-,52	,42
			3	,23	,21	,567	-,32	,78
		2	1	4,62E-02	,18	,968	-,42	,52
			3	,27	,20	,408	-,25	,80
		3	1	-,23	,21	,567	-,78	,32
			2	-,27	,20	,408	-,80	,25
	LSD	1	2	-4,62E-02	,18	,801	-,42	,33
			3	,23	,21	,291	-,21	,66
		2	1	4,62E-02	,18	,801	-,33	,42
			3	,27	,20	,185	-,14	,69
		3	1	-,23	,21	,291	-,66	,21
			2	-,27	,20	,185	-,69	,14
	Bonferroni	1	2	-4,62E-02	,18	1,000	-,51	,42
			3	,23	,21	,873	-,31	,77
		2	1	4,62E-02	,18	1,000	-,42	,51
			3	,27	,20	,554	-,24	,79
		3	1	-,23	,21	,873	-,77	,31
			2	-,27	,20	,554	-,79	,24

*. The mean difference is significant at the .05 level.

10.3. ABREVIATURAS

AAS: Ácido acetil-salicílico.

AC: Anchura del colon.

ADC: Adenocarcinoma.

ADN: Adenoma.

AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

AINE: Anti-inflamatorios no esteroideos (equivalente a las siglas inglesas NSAIDs).

AIT: Accidente Isquémico Transitorio.

APC: "Adenoma Prevention with Celecoxib".

APPROVe: "Adenomatous Polyp PRevention On VIOXX".

APTC: "Anti-Platelet Trialist Collaboration".

ASA: Sulfasalazina.

AVAC: Años de Vida Ajustados por Calidad (equivalente a QUALY).

CLASS: "Celecoxib Long-term ArthritiS Study".

cc: Centímetros cúbicos.

CCR: Cáncer colorrectal.

cm: Centímetros.

cm²: Centímetros cuadrados.

COX: Ciclo-oxigenasa.

DMH: Di-metil-hidrazina.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

EGF: "*Epidermal Growth Factor*", o Factor de Crecimiento Epidérmico.

EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

EMA: "*European Medication Agency*", o Agencia Europea del Medicamento.

FDA: "*Food and Drugs Administration*", agencia estadounidense de medicamentos y alimentos.

FU: Fluoruracilo.

g: Gramos.

ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva.

IC95%: Intervalo de Confianza al 95%.

IL: Interleucina o Interleukina.

LC: Longitud del colon.

LEV: Levamisol.

LV: Leucovorina.

Kg: Kilogramos.

mg: Miligramos.

ml: Mililitros.

mm: milímetros.

n: Número de elementos de un grupo.

nos: No especificado.

ns: No significativo.

Nº: Número.

OFA: “*Oncins France Strain A*”, rata Sprague-Dawley.

p: Nivel de significación estadística.

PGs: Prostaglandinas.

PP: Proliferadores de peroxisomas.

PPARs: “*Peroxisome proliferator-activated receptors*” (o Receptores activados por los proliferadores de peroxisomas).

PreSAP: “*Prevention of Spontaneous Adenoma Polyps*”.

PST: Porcentaje de Superficie Tumoral.

PSTB: Porcentaje de Superficie Tumoral Benigna.

PSTM: Porcentaje de Superficie Tumoral Maligna.

PSTT: Porcentaje de Superficie Tumoral Total.

QUALY: *Quality-Adjusted Life Years* (equivalente a AVAC).

RFC: Rofecoxib.

RNA: Ácido Ribonucleico.

RR: Riesgo Relativo.

SPSS: Programa estadístico informático.

SC: Superficie Cólica.

S_t: Superficie de un tumor individual.

ST: Superficie Tumoral.

STB: Superficie Tumoral Benigna.

STM: Superficie Tumoral Maligna.

STT: Superficie Tumoral Total.

THS: Tratamiento Hormonal Sustitutivo.

TNF: Tumor Necrosis Factor, o Factor de Necrosis Tumoral.

TNM: “*Tumor, Nodes, Methastasis*”, sistema internacional de clasificación y estadiaje tumoral.

UGD: Úlcera Gastroduodenal.

UI: Unidades Internacionales.

VICTOR: “*Vloxx in Colorectal cancer Therapy: definition of Optimal TheRapy”.*

VIGOR: “*Vloxx Gastrointestinal Outcomes Research”.*

%: Porcentaje.

10.4. ARTÍCULOS PUBLICADOS POR EL GRUPO INVESTIGADOR

Noguera Aguilar JF, Tortajada Collado C, Amengual Antich I, Morón Canis JM, Plaza Martínez Á, Pujol Tugores JJ. **Carcinogénesis cólica experimental farmacológicamente inducida en ratas.** *Span J Surg Res* 2002; 5(2): 59-62.

Noguera Aguilar JF, Tortajada Collado C, Morón Canis JM, Plaza Martínez Á, Amengual Antich I, Pujol Tugores JJ. **Modelo experimental para el estudio de la recidiva locorregional del cáncer colorrectal.** *Rev Esp Enferm Dig* 2002; 94(3): 131-4.

Plaza Martínez Á, Noguera Aguilar JF, Morón Canis JM, Ortiz Monzón E. **Quimioprevención del cáncer colorrectal con inhibidores de la ciclo-oxigenasa 2.** *Aten Farm* 2003; 5(1): 33-44.

Noguera Aguilar JF, Amengual Antich I, Plaza Martínez Á, Tortajada Collado C, Morón Canis JM, Pujol Tugores JJ. **Influence of the surgical manipulation of the colon in colonic induced carcinogenesis in rats.** *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 322-30.

Noguera Aguilar JF, Plaza Martínez Á, Amengual Antich I, Morón Canis JM, Tortajada Collado C, Pujol Tugores JJ. **Influence of rofecoxib on experimental colonic carcinogenesis in rats.** *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 678-86.